



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**CHARAKTERIZACE RŮZNÝCH DRUHŮ OTRUB Z  
HLEDISKA OBSAHU KYSELINY FERULOVÉ**

CHARACTERIZATION OF DIFFERENT BRAN SPECIES IN TERMS OF FERULIC ACID CONTENT

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Jakub Nábělek**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

**BRNO 2018**

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1299/2017  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Jakub Nábělek**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**  
Akademický rok: 2017/18

### Název bakalářské práce:

Charakterizace různých druhů otrub z hlediska obsahu kyseliny ferulové

### Zadání bakalářské práce:

1. zpracovat rešerši na dané téma
2. vývoj a optimalizace HPLC metody pro stanovení kyseliny ferulové v extraktu z otrub
3. charakterizace různých druhů otrub se zaměřením na výtežky kyseliny ferulové extrahované pomocí zásadité hydrolýzy
4. zpracování experimentálních dat

### Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Jakub Nábělek  
student(ka)

-----  
Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá alkalickou extrakcí kyseliny ferulové z vybraných druhů obilných otrub a jejich následným zhodnocením potenciálu využití tohoto odpadního materiálu. Další zkoumanou problematikou bylo nutriční zastoupení vyluhovatelných prvků získaných z otrub a vzniklého odpadu po hydrolýze pro zjištění jeho možného využití jako minerální hnojivo.

V teoretické části se tato práce zabývá pěstovanými obilovinami, složením a rozdíly obilného zrna v závislosti na druhu pěstované obiloviny a podmínek při jejich pěstování. Jsou popsány fenolické kyseliny. Dále jsou popisovány způsoby hydrolýzy tohoto materiálu s popisem jejich výhod a nedostatků.

V experimentální části je popsán postup alkalické hydrolýzy vzorků a extrakce minerálních prvků. Stanovení obsahu kyseliny ferulové proběhlo za použití metody HPLC s UV/VIS detektorem při vlnové délce 330 nm za použití mobilní fáze směsi methanolu a 0,5% roztoku kyseliny mravenčí. V prvkovém extraktu byl metodou ICP-OES, s detektorem fotonásobičem, stanoven obsah nutričně významných prvků (Cu, Fe, Zn, Mn, P, Ca, K, Mg).

Bylo zjištěno, mezi obsahem kyseliny ferulové v jednotlivých druzích otrub existují statisticky významné rozdíly. Největší výtěžek byl získán ve vzorku pšenice špalda.

Obsah mikro a makro prvků a vykazovaly významné statistické rozdíly mezi jednotlivými druhy otrub a jejich hydrolyzovanými zbytky. Nejvyšší výtěžnost prvků byla docílena u vzorku rýžových otrub, u hydrolyzátů obsahoval nejvyšší zastoupení vzorek špalda. Nejnižší výtěžnost byla získána u vzorku z ovsa a to v otrubách i hydrolyzátu.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Otruby, Kyselina ferulová, hydrolýza, HPLC

## **ABSTRACT**

This bachelor's thesis works with an alkaline extraction of a ferulic acid from different kinds of cereal bran. Another researched issue was extraction of nutritionally interesting elements extracted from bran and from hydrolysed waste. Those extracts has possible usage as a mineral fertilizer for plants.

In the theoretical part, this thesis deals with problematice of cereals, composition and differences in a cereal grain depending on kinds of cereal and an enviromental conditions. Chemical composition of cereal materials, focused on phenolic acids are also described. Another part deals with theoretical background of methods for the extraction of phenolic acids from bran with description of advantages and disadvantages.

Methods for alkaline hydrolysis and extraction of minerals from different kind of bran bran are described in experimental part of this work. Sodium hydroxide (0,5 M) was used for the hydrolysis of bran material. For the determination of the yields of ferulic acid, HPLC method with UV/VIS detection at wave-length 330 nm with usage of mobile phase mixture of methanol and 0,5 % solution of formic acid was used.

Acidified deionized water was used for the extraction of nutritionally interesting elements from bran and also from the hydrolyzed material. For the determination of the elemental composition of extracts (Cu, Fe, Zn, Mn, P, Ca, K, Mg), ICP-OES method was used.

It was found, that differences in wheat bran species in terms of yields of Ferulic acid are satistically important. The biggest yields of ferulic acid was obtained from the sample of spelt. The smallest yields of this acic was obtained from the sample of oat.

Content of micro and macro-elements showed statistical important differences in different kinds of bran and their hydrolyzed waste. Most abundand elemets were obtained from rice bran and from spelts hydrolyzate. The smallest abundand elemens were obtaned from oat bran and hydrolyzate.

## **KEYWORDS**

bran, ferulic acid, hydrolysis, HPLC

## CITACE

NÁBĚLEK, J. *Charakterizace různých druhů otrub z hlediska obsahu kyseliny ferulové*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 60 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D..

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu bakalářské práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, věnovaný čas a cenné rady. Dále bych rád poděkoval mé rodině za finanční a psychickou podporu, a zvláště za projevenou trpělivost.*

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Obiloviny .....</b>	<b>10</b>
2.1.1	Pěstované obiloviny.....	10
2.1.1.1	Pšenice.....	10
2.1.1.2	Žito.....	11
2.1.1.3	Rýže .....	11
2.1.1.4	Oves.....	11
2.1.2	Obilné zrno.....	11
2.1.3	Otruby.....	12
2.1.4	Zpracování otrub .....	13
<b>2.2</b>	<b>Chemické složení .....</b>	<b>13</b>
2.2.1	Minerální látky .....	13
2.2.1.1	Vápník.....	14
2.2.1.2	Fosfor.....	14
2.2.1.3	Draslík .....	14
2.2.1.4	Hořčík.....	14
2.2.1.5	Mangan.....	14
2.2.1.6	Železo.....	15
2.2.2	Lignin .....	15
2.2.3	Hemicelulózy .....	15
<b>2.3</b>	<b>Fenolické kyseliny .....</b>	<b>16</b>
2.3.1	Deriváty kyseliny benzoové.....	16
2.3.1.1	Kyselina gallová .....	16
2.3.1.2	Kyselina vanilová .....	17
2.3.1.3	Kyselina syringiová .....	17
2.3.1.4	Kyselina salicylová .....	18
2.3.1.5	Kyselina gentisová .....	18
2.3.2	Deriváty kyseliny skořicové .....	18
2.3.2.1	Kyselina p-kumarová .....	19
2.3.2.2	Kyselina Sinapová .....	19
2.3.2.3	Kyselina Kávová.....	19
2.3.2.4	Kyselina ferulová .....	20
<b>2.4</b>	<b>Způsoby extrakce .....</b>	<b>21</b>
2.4.1	Enzymatická hydrolýza.....	21

2.4.2	Kyselá hydrolýza .....	21
2.4.3	Alkalická hydrolýza .....	21
<b>2.5</b>	<b>Instrumentální analýza fenolických kyselin .....</b>	<b>22</b>
2.5.1	Čerpadla mobilní fáze .....	23
2.5.1.1	Pulzní čerpadla .....	23
2.5.1.2	Bezpulzní čerpadla.....	23
2.5.1.3	Reciproční čerpadla .....	23
2.5.2	Mísení mobilní fáze.....	24
2.5.2.1	Za nízkého tlaku.....	24
2.5.2.2	Za vysokého tlaku .....	24
2.5.3	Dávkovací zařízení .....	24
2.5.4	Kolony .....	24
2.5.5	Detektory .....	24
2.5.5.1	Univerzální: .....	25
2.5.5.2	Selektivní:.....	25
2.5.5.3	Spektrofotometrické detektory.....	25
2.5.5.4	Fluorimetrické detektory .....	25
2.5.5.5	Refraktometrický detektor.....	25
2.5.5.6	Elektrochemický detektor.....	25
<b>2.6</b>	<b>Stanovení nutričně významných prvků .....</b>	<b>26</b>
2.6.1	Instrumentace .....	26
2.6.2	Budící zdroj.....	26
2.6.2.1	Plazmový zdroj .....	26
2.6.3	Detekční zařízení .....	26
2.6.3.1	Sekvenční uspořádání .....	26
2.6.3.2	Simultánní uspořádání .....	27
<b>3</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	<b>Laboratorní vybavení.....</b>	<b>28</b>
3.1.1	Použité pomůcky .....	28
3.1.2	Použité chemikálie.....	28
3.1.3	Použité přístroje .....	28
<b>3.2</b>	<b>Vzorky otrub .....</b>	<b>28</b>
<b>3.3</b>	<b>Postup práce .....</b>	<b>29</b>
3.3.1	Postup hydrolýzy vzorků a stanovení obsahu kyseliny ferulové v extraktech .....	29
3.3.1.1	Alkalická hydrolýza vzorků .....	29
3.3.1.2	Neutralizace, srážení, filtrace a uchovávání hydrolyzátu .....	29
3.3.1.3	Stanovení obsahu kyseliny ferulové v extraktech pomocí HPLC .....	29

3.3.2	Extrakce a stanovení minerálních nutrientů z otrub a hydrolyzovaných zbytků .....	31
3.3.2.1	Příprava vzorků otrub a zhydrolyzovaných otrub pro solid – liquid extrakci .....	31
3.3.2.2	Extrakce minerálních látek.....	31
3.3.2.3	Úprava a uchovávání extraktu pro prvkovou analýzu.....	32
3.3.2.4	Prvková analýza vodného extraktu z otrub a vytěženého materiálu .....	32
3.4	Statistické zpracování výsledků .....	33
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>34</b>
4.1	Porovnání rozdílů obsahu kyseliny ferulové v extraktech z různých druhů otrub .....	34
	Skupina A.....	36
	Skupina B .....	36
	Skupina C .....	37
4.2	Stanovení minerálních látek.....	37
	Draslík.....	40
	Fosfor .....	41
	Hořčík .....	42
	Zinek.....	43
	Vápník.....	44
	Mangan.....	45
	Železo .....	46
	Měď.....	47
	Celkové vyhodnocení výtěžnosti minerálních látek z otrub a hydrolyzovaného materiálu .....	48
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>49</b>
	<b>LITERATURA .....</b>	<b>51</b>
	<b>CITACE OBRÁZKY:.....</b>	<b>58</b>
	<b>CITACE TABULKY.....</b>	<b>59</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....</b>	<b>60</b>



# 1 ÚVOD

Kyselina ferulová má díky svým antioxidačním vlastnostem velké uplatnění v potravinářském ale hlavně v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.

Spolu s ostatními fenolickými kyselinami se vyskytuje v buňkách rostlinných stěn a tvoří základní stavební prvek ligninu. Kyselinu ferulovou lze syntetizovat různými způsoby v laboratoři, nicméně tento způsob je velmi pomalý a neekonomický proto nemá pro průmyslovou výrobu této látky uplatnění. Díky výskytu v rostlinných materiálech je nejvhodnějším způsobem jejího získání extrakce z tohoto materiálu. Touto metodou přesněji alkalickou hydrolýzou se zabývá tato bakalářská práce.

Jak bylo zmíněno kyselina ferulová se běžně vyskytuje v rostlinných buňkách. Je však nutné z ekonomického a praktického hlediska najít vhodnou vstupní surovinu, která nekonkuruje potravinárnímu řetězci člověka. Jednou z těchto surovin plnící tuto podmínku jsou otruby. Otruby jsou jedním z finálních odpadů po zpracování obilovin ve mlýnech. Obiloviny patří k už od pradávna k základní lidské stravě a celosvětově produkce obilovin díky narůstání počtu obyvatel a rozvoji zemí třetího světa roste a s tím vzniká i nemalé množství odpadu ve formě zmíněných otrub. Otruby díky své nízké energetické hodnotě ale vysokému obsahu vlákniny se nejčastěji využívají jako hnojivo, topivo, příměs do krmivových směsí pro dobytek a v poslední době jako doplněk lidské stravy. Jedním z možných dalších využití by mohlo být právě získání kyseliny ferulové.

V závislosti na rozmanitosti pěstovaných obilovin, a tedy i dostupných otrub je nutné pro průmyslové získávání fenolických kyselin nutné definovat nejvhodnější vstupní surovinu. Cílem této bakalářské práce bylo porovnání vybraných druhů obilných otrub (pšenice, špalda, žito, oves a rýže) podle výtěžku kyseliny ferulové alkalickou hydrolýzou a najít tak onu nejlepší vstupní surovinu pro získání této kyseliny. Přitom je také důležité pomyslet na následné zpracování vzniklého odpadu po hydrolýze této suroviny, které by mělo být ideálně 100%. Proto bylo druhotným předmětem zkoumání této práce charakteristika vzniklého odpadu, podle vyluhovatelnosti nutričních minerálů, který by mohl mít v zemědělství potenciál sloužit jako minerálního hnojiva. Pro průmyslové využití je nezbytné najít kompromis mezi vhodnou surovinou s co nejvyšším výtěžkem ale také surovinou s co nejlepším další možností zpracování jejího odpadu.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Obiloviny

Obiloviny, též nazývané cereálie, patří už od pradávna k jednomu ze základních složek lidské stravy. Botanicky patří obiloviny mezi traviny (latinsky *Gramineae*). Do čeledi lipnicovité (latinsky *Poaceae*) se řadí téměř většina známých druhů obilovin. Výjimkou jsou druhy patřící do čeledi rdesnovitých (latinsky *Polygonaceae*) kam patří pohanka. V poslední době se také začínají využívat i další semena, například z čeledi amarantovité (latinsky *Amaranthaceae*) semena rostliny amarant a jiné [1; 2; 3].

Obiloviny čeledi lipnicovité jsou společného botanického původu, díky tomu mají značnou část společných vlastností a podobností jako ve struktuře, tvorbě zrna tak i v jejich chemickém složení kam patří uspořádání obalových i podobalových vrstev zrna, zastoupení jednotlivých aminokyselin v obilné bílkovině anebo mastných kyselin v tukových složkách [1; 2; 3].

Díky vlivu různých klimatických podmínek a během staletí šlechtění a pěstování se vytvořily odlišnosti mezi jednotlivými botanickými rody a druhy obilovin i mezi jednotlivými odrůdami téhož druhu jako jsou rozdíly ve složení a obsahu slizových látek, obsahu tuku nebo v kvalitě bílkovin. Postupem času se našly využití různých druhů obilovin pro různé využití a díky tomu některé obiloviny získaly dominantní postavení ve využití pro pekárenské a cereální zpracování. Díky šlechtění v posledním desetiletí byly vyšlechtěny odrůdy stejné obiloviny pro různá speciální využití. Dalším způsobem, jak ovlivnit specifické vlastnosti zpracovatelnosti je pomocí genetické manipulace [1; 2; 3].

#### 2.1.1 Pěstované obiloviny

Produkce obilovin celosvětově roste. Mezi běžně pěstované obiloviny s využitím v potravinářství patří pšenice, žito, ječmen, oves, rýže, kukuřice, proso a čirok. K nejvíce pěstovaným obilovinám na celém světě patří pšenice a rýže. V Evropě a v české republice patří k nejvíce pěstovaným obilovinám pšenice a žito. V jiných částech světa s výjimkou zmíněné Evropy patří k významným obilovinám zejména rýže a mezi další patří kukuřice, proso a čirok [1; 2; 3].

Níže jsou uvedeny informace o obilninách použitých v experimentální části této práce.

##### 2.1.1.1 Pšenice

V celosvětovém měřítku patří k nejtradičnější obilovině na celém světě a k nejrozšířenější obilovině pro pekárenské využití. Díky tomu bylo po celém světě vyšlechtěno několik desítek jejích druhů, kdy má mnohé z nich své specifické uplatnění. Přehled běžně pěstovaných druhů pšenice popisuje tabulka 1. Mezi nejvíce rozšířené pšeničné druhy patří tvrdá, obecná a špalda. [2; 3].

Tabulka 1 Přehled druhů pšenice (*Triticum*)

český druhový název	Latinský druhový název
<b>Tvrdá (těstářenská)</b>	<i>durum</i>
<b>Obecná (pekařská)</b>	<i>aestivum</i>
<b>Špalda (samopše)</b>	<i>spelta</i>
<b>Jednozrnná</b>	<i>monococcum</i>
<b>Dvouzrnná</b>	<i>dicoccum</i>
<b>Polská</b>	<i>polonicum</i>
<b>Naduřelá, Anglická</b>	<i>turgidum</i>
<b>Shloučená</b>	<i>compactum</i>

### 2.1.1.2 Žito

Využití žita pro výrobu žitného a žitnopšeničného pečiva je tradiční ve střední a východní Evropě. Celosvětově se velkého významu nedosahuje. Botanicky je velmi příbuzné pšenici. Nejrozšířenějším pěstovaným druhem je žito seté [2; 3].

### 2.1.1.3 Rýže

Patří k nejvíce rozšířené obilovině pro přímou spotřebu. Nejvíce pěstovaná převážně v asijských a afrických zemích a částečně v Americe [2; 3].

### 2.1.1.4 Oves

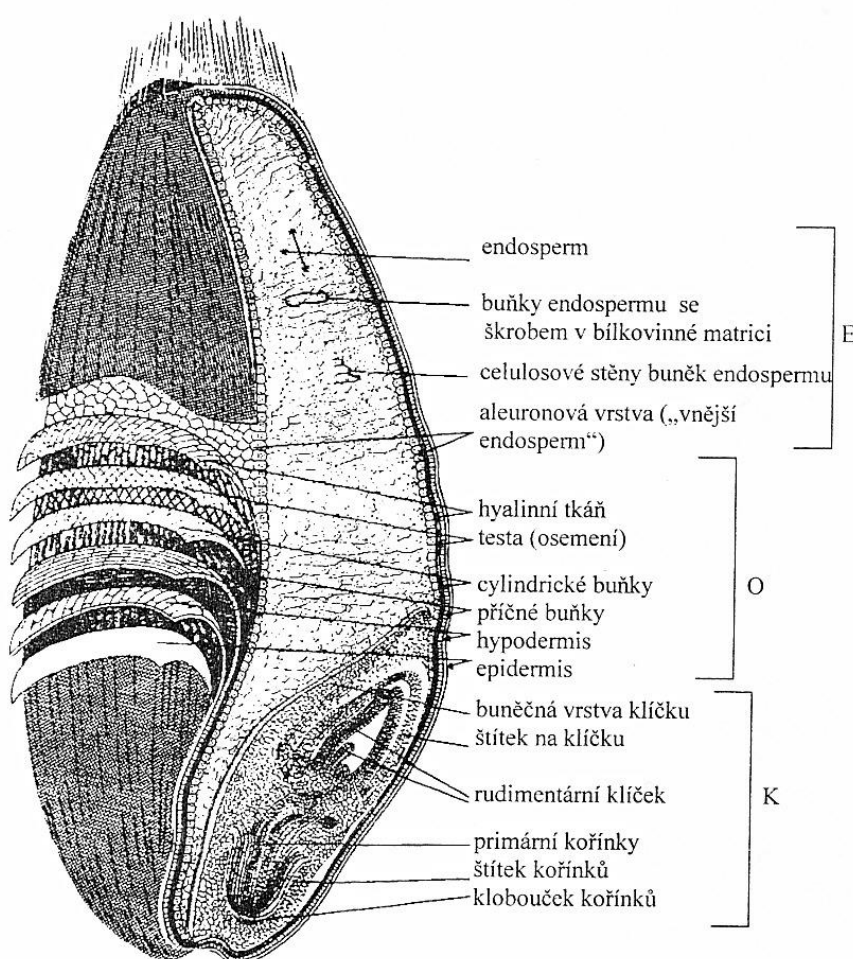
Pravděpodobně pochází z Malé Asie. Patří k nejodolnějším obilovinám pro sušší a zejména chladnější oblasti. Díky tomu je její pěstování rozšířené především na severu Evropy a Kanady. Nejběžnější využití ovsa je pro krmné účely a pro přímé potravinářské zpracování se zpracovává přibližné množství 20 – 23 tis. t a to především zpracováním na ovesné vločky [2; 3].

## 2.1.2 Obilné zrno

Obilné zrno nebo také obilka jsou semeny obiloviny a jedná se tedy o živý organismus, zárodek nové rostliny, který má zajistit pokračování rostlinné generace. Morfologická skladba různých druhů obilovin jsou přibližně totožná. Liší se především tvarem, velikostí a podílovým zastoupením jednotlivých vrstev. Díky těmto odlišnostem lze od sebe oddělit jednotlivé druhy. Skladbu jednotlivých vrstev pšeničného zrna popisuje obrázek 1 [1; 2; 3].

Tvary zrn se pohybují od dlouhých protáhlých až po téměř kulaté. Rozměry zrn stejné obiloviny se poměrně liší i v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách během celého roku, lokalita, která převážně ovlivňuje dešťové srážky sluneční svit, teplotní profil, nadmořskou výšku, ale také kvalita orné půdy a agrotechnika, mezi tyto ovlivňující faktory patří hnojení a dodržení agrotechnických termínů. Hlavním charakteristickým parametrem zrn je, zda má pluchy (ječmen, oves, rýže) nebo je nahé (pšenice, žito, kukuřice). Skutečná velikost zrna závisí tedy na spoustách faktorů a je nemožné předem odhadnout, jak bude vypadat jednotlivá sklizeň v daném roce [1; 3].

Obilné zrno obsahuje 60-70 % polysacharidů, 8-14 % bílkovin a 1-5 % tuků. Je bohatým zdrojem vitamínů skupiny B a vitamínu E (tokofenoly, tokotrienoly). Mezi minerální látky obsažené v zrně jsou zejména vápník, železo, hořčík, měď, mangan, zinek a fosfor tyto minerální látky se nacházejí v popelu, který tvoří 1,25-2,5 %. Zastoupení hlavních chemických složek v jednotlivých částech zrna se od sebe velmi odlišují. V endospermu se vyskytuje méně minerálů než v obalových vrstvách. Zastoupení minerálních látek v zrně a jeho jednotlivých částech je závislé hlavně na druhu rostliny, zrna rostlin pluchacovitých obsahují více minerálů než ostatní, také závisí na klimatických podmínkách, půdě a způsobu pěstování, z posledních dvou přechází nejvíce minerálů společně s kontaminací v podobě těžkých kovů. Obsah minerálních látek je velmi proměnlivý, a proto se berou získaná data pouze jako orientační a hodnoty udávané v literaturách se od sebe výrazně odlišují [1; 3].



Obrázek 1 průřez pšeničným zrnem

### 2.1.3 Otruby

Otruby neboli obalové vrstvy zrna (tzv. exosperm) mají v přírodě významnou roli při ochraně zrna, jakožto životaschopný zárodek nové rostliny, před všemi vlivy většího světa mezi které patří zejména mechanické a biologické vlivy. Pro tyto účely jsou otruby bohaté na bioaktivní látky, které zajišťují rostlinám ochranu například před viry [1; 4].

Do otrub přechází složky aleuronové vzstvy bohaté na nelepkovitou bílkovinu, minerální látky a složky ostatních obalových a podobalových vrstev obsahující významný podíl neškrobových polysacharidů a dalších látek. Souhrně se všechny tyto látky nazývají jako vláknina.[1; 2; 3].

Otruby vznikají jako výsledný odpadový produkt v mlýnské technologii při zpracovávání obilných zrn na mouku. V mlýnské technologii mají otruby nepříznivý vliv na výslednou kvalitu mouky, proto docílí k jejímu oddělování.[1; 2; 3; 4].

Množství orub získaných při zpracování obilného zrna na mouku závisí na druhu zpracovávané obiloviny u pšenice tvoří otruby průměrně 15 % hmoty zna naproti tomu u kukuřice tvoří zhruba 5 % hmoty zrna. Z tohoto důvodu vzniká zohdílný obsah odpadu ve formě otrub z různých obilovin [1; 2; 3].

Do otub patří hyalinní tkáň, testa (osemení), cylindrické buňky, příčné buňky, hypodermis, epidermis toto popisuje obrázek 1. Jednotlivé otruby jednotlivých druhů obilovin se liší poměrovým zastoupením jednotlivých vrstev.[1; 3; 4]

#### **2.1.4 Zpracování otrub**

Otruby mají v dnešní době nejběžnější využití jako příměs do krmiva pro dobytek. Otruby lze také využít jako hnojivo nebo je lze spalovat pro získání tepelné nebo elektrické energie. Poslední dobou se otruby díky vysokému obsahu vlákniny přidávají do potravin pro zvýšení její nutriční hodnoty [1; 3; 4].

Novým způsobem využití tohoto odpadového materiálu by mohlo být vstupní surovina pro získání fenolických kyselin.

### **2.2 Chemické složení**

Po celém světě se pěstuje široká škála druhů obilovin, které se navzájem odlišují svým chemickým složením v rámci jednotlivých druhů ale i poddruhů stejného rodu. Tato odlišnost se díky odlišným pěstitelským podmínkám přenáší i mezi obilovinami stejného druhu. Díky této skutečnosti jsou získané hodnoty a hodnoty udávané v literaturách pouze orientační a nelze je pokládat za adekvátní [1; 2; 3; 4].

#### **2.2.1 Minerální látky**

Obsah minerálních látek se souhrnně označuje jako popel. V jednotlivých částech zrna se obsah těchto minerálních látek liší. Většina minerálních látek je zastoupena ve vnějších vrstvách, které přecházejí při zpracování do otrub. Množství minerálních látek obsažených v obilovnách se výrazně odlišují. Vliv na rozdílný obsah má převážně způsob pěstování a klimatické podmínky při kterých toto pěstování. Jak bylo uvedeno výše množství minerálních látek obsažených v cereálním zrně je závislé na jeho druhu ale zejména na pěstitelských podmínkách [1; 2; 3; 4].

Obsahy jednotlivých nutričně významných prvků se u každého druhu odlišují. Mezi hlavní faktory patří kvalita orné půdy, intenzita, kvalita a typ hnojení, které může být syntetickými nebo biologickými hnojivy, množství vody a koncentrace oxidu uhličitého v ovzduší [3; 4].

Mezi nutričně významné prvky vyskytujících se v obilovinách patří zejména vápník, železo, hořčík, měď, mangan, zinek a fosfor [3; 4; 5; 6].

Tabulka 2 celkový obsah vybraných minerálních látek ve vybraných otrubách

prvek	Pšenice [mg.100 g <sup>-1</sup> otrub]	Žito [mg.100 g <sup>-1</sup> otrub]	Rýže [mg.100 g <sup>-1</sup> otrub]	Oves [mg.100 g <sup>-1</sup> otrub]
Vápník	56,51	60,77	57,00	58,00
Měď	1,21	0,74	0,73	0,40
Řelezo	10,95	7,89	18,54	5,41
Draslík	984,84	1122,34	1485,00	566,00
Hořčík	358,28	336,65	781,00	235,00
Mangan	8,11	4,32	14,21	5,63
Fosfor	901,92	955,97	1677,00	734,00
Zinek	7,18	4,66	6,04	3,11

#### 2.2.1.1 *Vápník*

Je důležitým prvkem struktury primárních buněčných stěn. Má ovlivňující účinek na enzymy ale díky své nízké koncentraci v cytoplasmě ne takové jako hořečnaté a draselné kationty. Nedostatek ovlivňuje těsnost membrán [7].

#### 2.2.1.2 *Fosfor*

V rostlinách se fosfor nejčastěji vyskytuje ve formách  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  nebo  $\text{HPO}_4^{2-}$  v závislosti na pH pěstovaného média. Hraje roli v procesu přenosu energie. Je strukturní složkou fosfolipidů, nukleových kyselin, nukleotidů, koenzimů a fosfolipidů [7].

#### 2.2.1.3 *Draslík*

V rostlině ovlivňuje enzymatickou aktivitu, podílí se na udržování buněčné elektroneutality. Hraje důležitou roli při regulaci osmotických poměrů buněk. Transport draselných iontů přes membrány chloroplastů a mitochondrií je spjat s energetickým stavem zůstliny [7].

#### 2.2.1.4 *Hořčík*

V rostlinách zastává významnou fyziologickou a molekulární roli. Je složkou molekuly chlorofylu která je kofaktor mnoha enzymatických procesů. 15 až 30 % celkového hořčíku je v rostlině vázáno v chlorofylu [7].

#### 2.2.1.5 *Mangan*

Podílí se na mnoha biochemických funkcích, především působí jako aktivátor enzymů např. dehydrobenázy, transferázy, hydroxylázy a dekarboxylázy. Podílí se na dýchacím řetězci, syntéze aminokyselin, ligninu a hormonů [7].

### 2.2.1.6 Železo

Je součástí dvou hlavních skupin protejnů hem protejnů a Fe-S protejnů. Slouží jako přenos elektronů při oxidačně redukčních reakcí. Podílí se na tvorbě chlorofylu [7].

### 2.2.2 Lignin

Je nejrozšířenějším aromatickým polymerem a po celulóze je lignin druhým nejrozšířenějším biopolymerem, který se vyskytuje ve všech suchozemských, a i v některých vodních rostlinách, kde se vyskytuje ve formě ligninu nebo ligninových složek. Jedná se o jednu z důležitých součástí stěn rostlinných buněk jako strukturní složka dřevin, kde představuje obsah 15 až 40 % celkové suché hmotnosti dřevnatých rostlin [8; 9; 10].

Samotné slovo lignin pochází z latinského slova *Lignum*, které je výrazem pro dřevo. Tento výraz byl poprvé použit Shulzem v roce 1865 pro popsání rozpuštěných částí při reakci a kyselinou dusičnou [8; 10].

Hlavní funkcí ligninu v rostlinách je fyzikální pevnost tvorba vodních vodících sítí díky hydrofobních interakcí a ochrana rostliny před mikroorganismy a hmyzem [8; 9; 10].

Chemická struktura ligninu je složena z náhodně zesíťovaných fenylypropanových skupin, které tvoří výslednou 3 D strukturu. Mezi tři základní strukturní monomerní jednotky, ze kterých se skládá, jsou kumaralkohol, conifenylylalkohol a sinapylalkohol. U různých rostlinných druhů se liší složení ligninu, to je způsobené zastoupením jednotlivých monomerů v různých koncentracích [8; 9; 10].

Malá část ligninu je rozpustná v nepolárních rozpouštědlech jako například toluen nebo v nevodíkových rozpouštědlech například dichlormethan. Jiné části jsou naopak rozpustné ve více polárních rozpouštědlech například v alifatických alkoholech [8; 10].

I přesto že byl lignin studován více než století a bylo dosaženo pokroku v oblasti biosyntézy monolignolů a strukturního objasnění, stále existují dohady a debaty ohledně strukturní pravidelnosti ligninu a procesu lignifikace [8; 10].

Díky významnému obsahu sloučenin obsahující fenolické jádra, má lignin potenciál stát se důležitým zdrojem pro získání aromatických chemikálií [8;9;10].

### 2.2.3 Hemicelulózy

Hemicelulózy jsou po celulóze druhým nejrozšířenějším biopolymerem. Jeho zastoupení je zhruba čtvrtina až třetina většiny rostlinných materiálů. Obecně hemicelulózu lze definovat jako polysacharid. Od celulózy se odlišuje hlavním komponentem buněčné stěny, kterým je  $\beta$  1,4 vázaný polyglukan. Současné době je přijímána obecná definice hemicelulóz jako alkalicky rozpustný materiál po odstranění pektinových látek [10; 11].

Hemicelulóza obsahuje celou řadu heteropolysacharidů jako jsou glukóza, xylóza, manóza, galaktóza, arabinóza, fukóza a kyseliny glukorovou a galaktonovou. Zastoupení jednotlivých složek je závislé na typu zdroji, Nachází se v primárních a sekundárních buněčných stěnách všech půdních a sladkovodních rostlin a v některých mořských řasách [10; 11].

Využití hemicelulóz má potenciál velkého využití jako například použití hemicelulózy obilné slámy jako výchozí fermentační surovinu pro výrobu ethanolu, acetonu, butanolu a xylitolu [11].

## 2.3 Fenolické kyseliny

Pod názvem fenolické kyseliny se nejčastěji popisují fenoly, které mají funkční karboxylovou skupinu. Jedná se o sekundární rostlinné metabolity, které jsou široce rozšířeny v rostlinné říši. Patří k nejobvyklejším formám fenolických sloučenin v rostlinách a tvoří hlavní a nejkomplexnější skupiny fytochemických látek u cereálních zrn. V rostlinách se fenolické kyseliny vyskytují ve volné a vázané (esterové) formě. Nejčastěji se vyskytují jako součást ligninu v buněčných stěnách rostlin. Jsou proto hojně zastoupeny v rostlinných materiálech a jejich obsah liší v závislosti na druhu rostliny [12; 13; 14].

Přestože nejsou známi přesné role fenolických kyselin v rostlinách, bývají spojovány s různými funkcemi zahrnující příjem živin, syntézu bílkovin, enzymatickou aktivitou, fotosyntézy, strukturní složení. V potravinách bývají fenolické kyseliny spojovány s barvou, smyslovými, nutričními a antioxidačními vlastnostmi. Zastoupení jednotlivých fenolických kyselin není homogenní a mění se v průběhu růstové fáze a dozrávání, zastoupení v rostlině také ovlivňují i podmínky jejího pěstování například teplota [12; 13; 14].

Mají pozitivní vliv na lidské zdraví. Vykazují antioxidační účinky a v rostlinách slouží jako antioxidanty volných radikálů, které na lidský organismus mají silně nepříznivý vliv a způsobují celou škálu nemocí, mezi kterým patří onemocnění srdce, rakovin, hypertenze, diabetes, ateroskleróza, Parkinsonova choroba a Alzheimerova nemoc [12].

Díky své antioxidační vlastnosti zásadně komplikují jejich analýzu. Fenolické kyseliny se nejčastěji stanovují vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) nebo plynovou chromatografií (GC) [12].

Fenolické kyseliny se rozdělují do dvou hlavních skupin na deriváty kyseliny benzoové a deriváty kyseliny skořicové. Rozdělení je podle odlišné konstruktivní karbonové struktury. Díky rozdílným polohám hydroxylových skupin na aromatickém jádře vznikají různé kyseliny [12].

Kyseliny jako kávoová, p-kumarová, vanilová, ferulová a protokatechová jsou přítomny téměř ve všech rostlinách. Ostatní kyseliny (např. kyselina Gentisická, syringická) se nachází ve vybraných potravinách a rostlinách [12; 13; 14].

### 2.3.1 Deriváty kyseliny benzoové

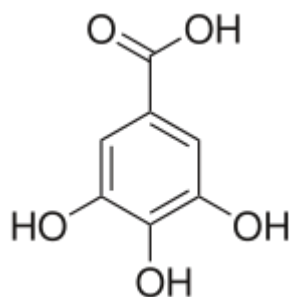
Jsou deriváty, které se liší polohou substituentů navázaných na benzeovém jádru základní kyseliny benzoové. Do této skupiny patří 5 kyselin, gallová, vanilová, siringiová, salicylová a geatisová [12; 13; 14; 15].

#### 2.3.1.1 Kyselina gallová

Její systematický název je 3,4,5-trihydroxybenzoová kyselina a její sumární vzorec je  $C_7H_6O_5$ . V rostlinách se vyskytuje ve volné nebo ve vázané formě, kdy tvoří taniny. Patří k převládajícím fenolickým sloučeninám v rostlinách. Stejně jako ostatní fenolické látky má antioxidační schopnost.

V přírodě se vyskytuje v ořechových žlázách, čaji a v taninech (jako glukosid). Největší využití kyseliny gallové je pro výrobu inkoustu. Propylgallát je netoxický, a proto se využívá jako potravinářský antioxidant, zároveň má vysokou aktivitou [16; 17; 18].

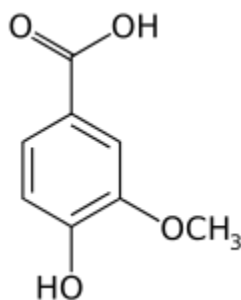




Obrázek 2 (kyselina gallová)

### 2.3.1.2 Kyselina vanilová

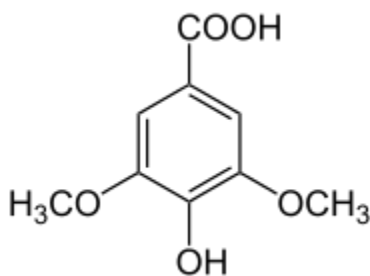
Také nazývána kyselina 4-hydroxy-3-methoxybenzenová. Jedná se o oxidovanou formu vanilinu, který je součástí přírodního aroma vanilky, mající příjemně krémový zápach. Vyrábí se jako meziprodukt při biokonverzi ferulových kyselina na vanilin. V odtoku z mlýnů na olivový olej se vyskytuje jako kontaminující látka. V lidském těle vzniká jako vedlejší metabolický produkt kyseliny kávové [19; 20; 21; 22].



Obrázek 3 (kyselina vanilová)

### 2.3.1.3 Kyselina syringiová

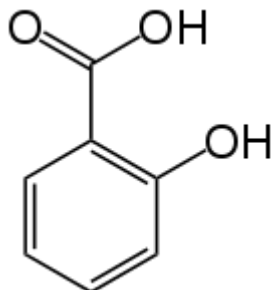
Její další název je kyselina 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoová. Je hlavní fenolickou sloučeninou v listech *Morus nigra*. Vykazuje antioxidační, protirakovinné a hepatoprotektivní účinky. Vyskytuje se v některých destilátech. Vzniká ve střevě střevní mikroflórou z anthokyaninů a polyfenolů konzumovaných z ovoce, alkoholických nápojů [15; 23; 24].



Obrázek 4 (kyselina syringiová)

#### 2.3.1.4 Kyselina salicylová

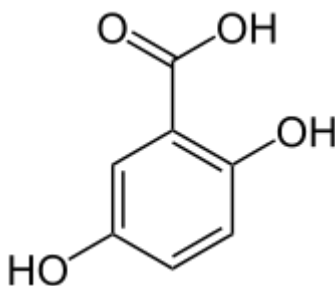
Známa také pod názvem 2-hydroxyfenolová kyselina. Kyselina salicylová se hojně využívá v lékařství, jako součást aspirinu kde se vyskytuje jako kyselina acetyl salicylová. Získává se z kůry bílých vrb. Má široký výskyt v rostlinné říši. Je velmi často využívána pro její bakteriostatické, fungicidní, keratolytické, analogelické, antipyretické a antiinflamační vlastnosti. V dnešní době se kyselina salicylová převážně vyrábí Kolbeh-Schmittovou reakcí, při této metodě se převede salicilát sodný na kyselinu salicylovou po přidavku kyseliny sírové [15; 25; 26; 27].



Obrázek 5 (kyselina salicylová)

#### 2.3.1.5 Kyselina gentisová

Její systematický název je 2,5-dihydroxybenzoová kyselina se sumárním názvem  $C_7H_6O_4$ . Chemicky je podobná kyselině salicylové. Sodná sůl kyseliny gentisové se využívá v lékařství jako analgetikum, antipyretikum a antirevmatikum. V lidském organismu vzniká při odbourávání aspirinu v ledvinách využívá se jako antioxidant ve farmaceutických přípravcích. Lze ji využít jako matrici při hmotnostní spektroskopii typu MALDI. Je aktivním metabolitou při degradaci kyseliny salicylové. Kyselina gentisová vzniká jako vedlejší produkt při metabolismu tyrosinu a benzoátu [15; 28; 29; 30].



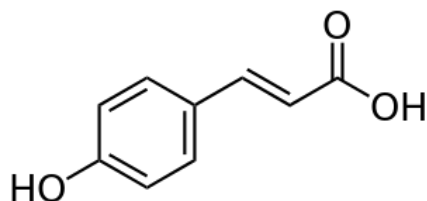
Obrázek 6 (kyselina gentisová)

#### 2.3.2 Deriváty kyseliny skořicové

Deriváty kyseliny skořicové jsou bioaktivní polyfenoly rozšířené v rostlinné říši a přítomné i v lidské stravě. Do této skupiny kyseliny patří kyseliny p-kumarová, ferulová, Synapová a kávová, které se od sebe liší polohou hydroxylových skupin na benzenovém jádře [12; 13; 14].

### 2.3.2.1 Kyselina p-kumarová

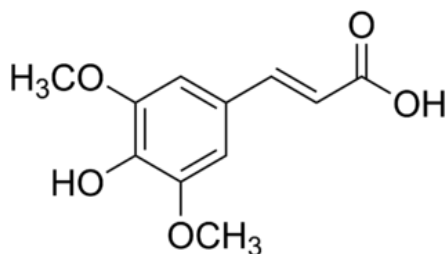
kyselina p-kumarová se v rostlinách jako je ovoce, zelenina obiloviny a v houbách ve volné formě nebo v konjugované s mono-, oligo- a polysacharidy, alkylalkoholy, organickými kyselinami, aminy a ligninem. Je biotechnologicky významná jako prekurzor pro flavoidy resveratrol a naringenin. Lze ji syntetizovat z tyrozinu a fenylalaninu. Je hlavním meziproduktem při syntéz dalších fenolických kyselin jako jsou kyselina kávová, cholobenová, rosmarinová a ferulové. Vyskytuje se v ovoci, zelenině, obilovinách a houbách. Má antioxidační, antimikrobiální, protinádorové, protizánětlivé účinky [31; 32; 33; 34].



Obrázek 7 (kyselina p-kumarová)

### 2.3.2.2 Kyselina Sinapová

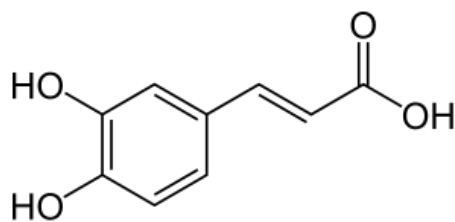
Také známá jako 3,5-dimethoxy-4-hydroxyskořicová kyselina. Má využití jako matrice v hmotnostní spektroskopii MALDI. Stejně jako ostatní deriváty kyseliny skořicové se vyskytuje ve volné nebo ve vázané formě. Má antioxidační a protizánětlivé účinky. Spolu s některými jejími deriváty je zájem vzhledem k jejich biologickým vlastnostem, díky kterým mohou mít potenciál při léčbě patologických onemocnění, jako jsou infekce, záněty, rakovina, neurodegenerace, diabetes, oxidační stres a úzkost. Je přítomna v různých potravinách, jedlých částech rostlin a ovoci, nejvíce se vyskytuje v brokolici, listech brassicu a ve šťávách citrusového ovoce [35; 36; 37; 38].



Obrázek 8 (kyselina sinapová)

### 2.3.2.3 Kyselina Kávová

Její systematický název je 3-(3,4-dihydroxyfenyl)-2-propenová kyselina. Kyselina kávová je jednou z nejběžnějších fenolických kyselin vyskytujících se v ovoci, zelenině, houbách a bylinkách. V potravinách se nejčastěji vyskytuje jako kyselina chlorogenová, jedná se o ester kyseliny kávové a chinonové. Je biosyntetizována hydroxylací kyseliny p-kumarové. Má léčebné vlastnosti jako jsou například Antioxidační, protinádorové. Protizánětlivé, antimikrobiální a antidiabetické vlastnosti [39; 40; 41; 42].



Obrázek 9 (kyselina kávová)

#### 2.3.2.4 Kyselina ferulová

Lze ji také pojmenovat systematickým názvem jako 3-(4-hydroxy-3-methylfenyl)-2propenová kyseliny nebo jako, jejíž sumární vzorec je  $C_{10}H_{10}O_4$ . Jedná se o netoxická bílá krystalická látka. Je hojně zastoupena v rostlinné říši [43; 44].

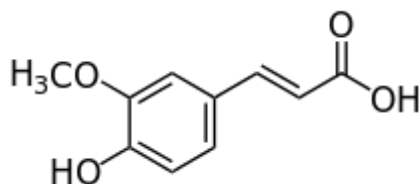
V přírodě se nejčastěji vyskytuje estero kovalentně vázaná na polysacharidy buněčných stěn. Nejčastěji je přítomna v potravě ve formě monomerů a dimerů, kovalentně vázaných esterovou vazbou, a to s polysacharidy, glykoproteiny, polyaminy, ligninem nebo s hydroxylovanými mastnými kyselinami [40; 41; 45].

Má velmi příznivé fyziologické účinky, mezi které patří například antioxidační, antimikrobiální, protirakovinná aktivita. Díky svým vlastnostem má široké uplatnění v potravinářském, farmakologickém a kosmetickém průmyslu [41; 46; 47].

Kyselina ferulová se používá pro přípravu kosmetických přípravků s antioxidačním účinkem. Zpomaluje proces stárnutí, tím že snižuje účinky poškození způsobené volnými radikály na kůži. Díky tomu chrání pokožku před poškozením od slunečního záření a napomáhá k regeneraci poškozené pokožce. Díky svým vlastnostem pomáhá stabilizovat i ostatní složky přípravku, jako je například oxidačně labilní vitamín C, a tím činí jednotlivé složky účinnější, odolnější a zvyšuje tak účinnost celého přípravku [45; 46].

Kyselinu ferulovou lze připravit dvěma způsoby. Prvním způsobem je chemické syntéza, kdy je kyselina ferulová připravena reakcí vanilinu s kyselinou malonovou katalyzována piperidinem. Při této produkci vzniká směs trans- a cis- izomerů. Výhodou je velmi vysoká výtěžnost. Nevýhodou je příliš dlouhá doba reakce, která může trvat až tři týdny. Druhým způsobem je získání extrakcí z přírodních zdrojů [47; 48].

V dnešní době se kyselina ferulová z přírodních zdrojů vyrábí převážně z  $\gamma$ -oryzanolu obsaženého v rýžovém oleji i přesto, že buňky rostlinných stěn obsahují mnohem více kyseliny ferulové. Jedním z hlavních důvodů je zasíťování kyseliny ferulové s polysacharidy díky čemuž je velmi obtížné uvolnění a následná její vyčištění [48].



Obrázek 10 kyselina ferulová

Tabulka 3 vybrané fyzikální a chemické vlastnosti kyseliny ferulové

<b>Molární hmotnost</b>	194,186 g.mol <sup>-1</sup>
<b>Skupenství</b>	Pevná látka
<b>Bod tání</b>	168 - 171 °C
<b>Rozpustnost ve vodě při 25 °C</b>	5,97·10 <sup>3</sup> mg.l <sup>-1</sup>
<b>Tenze par při 25 °C</b>	2,69·10 <sup>-6</sup> mm Hg
<b>Počet donorů vodíku</b>	2
<b>Počet akceptorů vodíku</b>	4
<b>Počet rotačních vazeb</b>	3
<b>Monoisotopická hmotnost</b>	194,058 g.mol <sup>-1</sup>

## 2.4 Způsoby extrakce

Kyselinu ferulovou spolu s ostatními fenolickými kyselinami lze z rostlinných materiálů získat uvolněním (extrakcí) z křížových vazeb, a to způsobem enzymatickým nebo chemickou hydrolýzou. Obě skupiny mají své výhody ale také i své omezení. Do chemické hydrolýzy patří využití kyseliny a zásady [49; 50; 51; 52].

### 2.4.1 Enzymatická hydrolýza

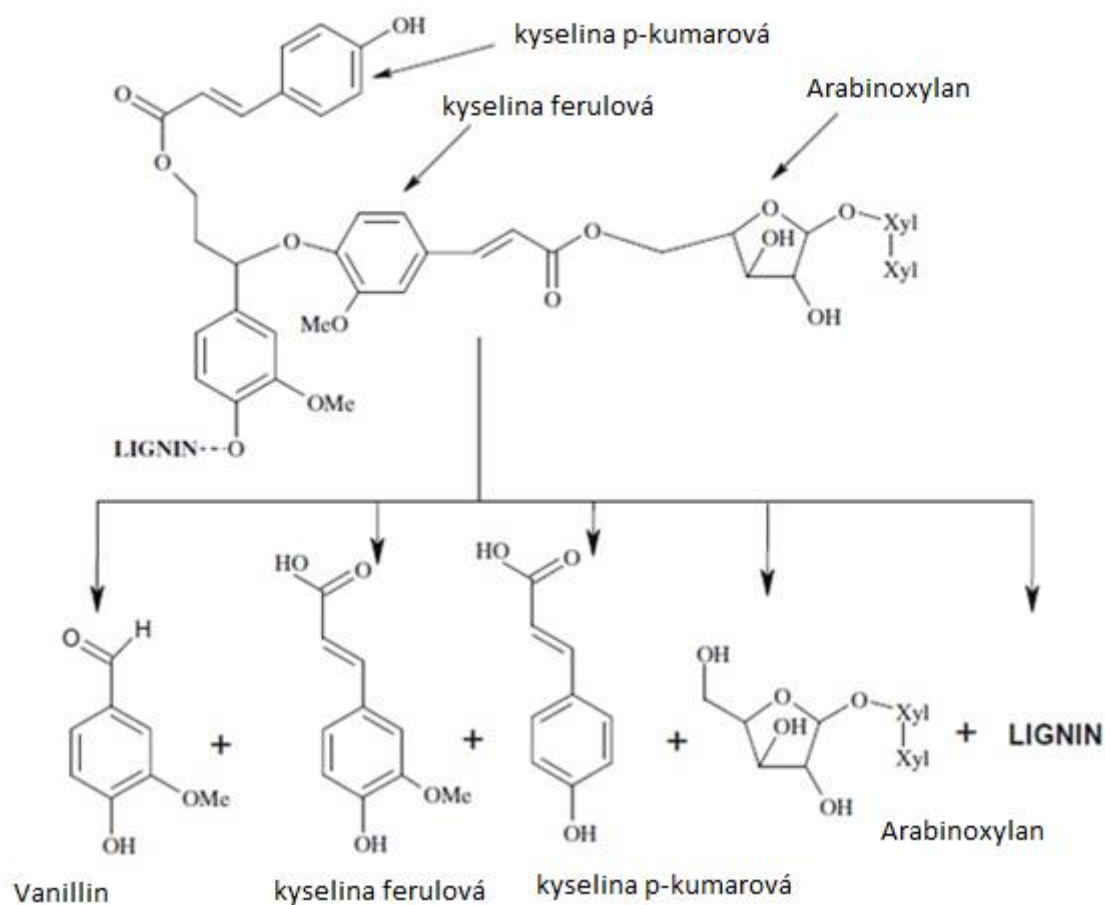
Při enzymatické hydrolýze se využívá enzym kyselina ferulová esteráza. I přesto že byl proveden na tento způsob získání kyseliny rozsáhlý výzkum, i s kombinací polysacharid hydrogenázou, má velmi malé uplatnění pro získávání komerční kyseliny ferulové z důvodu velmi nízké výtěžnosti a dlouhé době nutné pro kompletní hydrolýzu vazeb [49; 50; 51; 52].

### 2.4.2 Kyselá hydrolýza

Ve srovnání s předešlou enzymatickou hydrolýzou má určité výhody jako je nízký stupeň gelace, kratší reakční doby, menších finančních nákladů a možnost použít vyšší reakční teploty [53; 54].

### 2.4.3 Alkalická hydrolýza

Principem je reakce hydroxidu, nejčastěji hydroxidu sodného, s esterovými vazbami za vzniku odpovídajících hydrolytických produktů. Princip alkalické hydrolýzy popisuje obrázek 11. Při porovnání s enzymatickou metodou má alkalická hydrolýza značné výhody, mezi které patří zejména celková rychlost hydrolýzy a výrazně vyšší výtěžnost. Nevýhodou je obtížnost izolace získané kyseliny ze vzniklého hydrolyzátu, který obsahuje i mnoho dalších složek a je velmi hnědě zbarven. Tato metoda se využívá k určení obsahu kyseliny ferulové v otrubách, které by mohli uvolnit vázanou kyselinu ferulovou v krátkém čase, při vysoké alkalitě a zvýšené teplotě [48; 55; 56; 57; 58; 59].



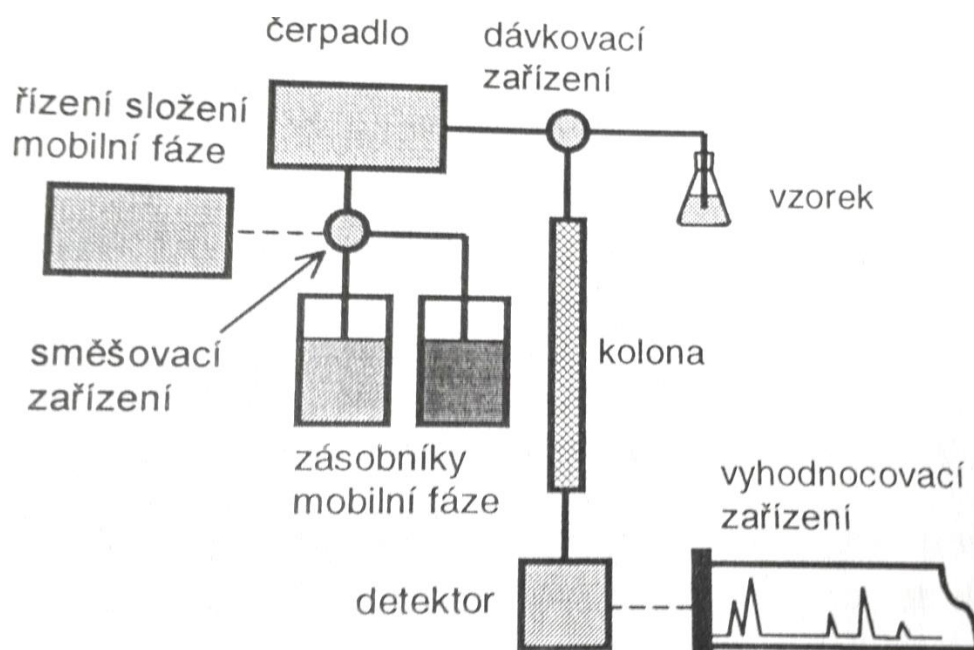
Obrázek 11 Schéma rozkladu ligninu

## 2.5 Instrumentální analýza fenolických kyselin

Pro účely stanovení fenolických kyselin v různých kapalinách slouží nejčastěji metoda HPLC. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je separační chemická metoda, ve které se k separaci využívá rozdílné afinity separované látky k náplni kolony a použité mobilní fáze. Jedná se o chromatografii v kolonovém uspořádání s použitím mobilní fáze v kapalném skupenství [60; 61; 62; 63].

Patří k nejdůležitějším moderním analytickým separačním metodám, ideálně doplňuje další chromatografické techniky, mezi které patří tenkovrstvá chromatografie, plynová chromatografie a sloupcová chromatografie [60; 61; 62; 63].

Při spojení HPLC s hmotnostní spektrometrií jako detektor, se získá zařízení, který zajišťuje rychlou a účinnou separaci spolu s citlivou, specifickou a univerzální detekcí. Jako náplň kolony pro HPLC se většině případů používá silikagel. Vzorky jsou dávkovány do mobilní fáze, která jednotlivé složky vzorku je unáší kolonou, kde dochází k jejich separaci. Výsledkem měření na HPLC je chromatogram, při jeho vyhodnocení se hodnotí výška píku a jejich poloha [60; 61; 62; 63].



Obrázek 12 schéma kapalinové chromatografie

### 2.5.1 Čerpadla mobilní fáze

Tok mobilní fáze kolonou a ostatními částmi zařízení je zajištěn vysokotlakým čerpadlem. Pro vysoko účinnou kapalinovou chromatografii se používají dva typy čerpadel [60; 61].

#### 2.5.1.1 Pulzní čerpadla

Mají velmi malý objem pracovní komory. Potřebný přetlak se docílí mnohokrát opakovaným stlačením a vytlačení mobilní fáze z pracovní komory do kolony [60; 61].

#### 2.5.1.2 Bezpulzní čerpadla

Lineární čerpadla se také skládají z pístu, ale na rozdíl od pulzních čerpadel mají mnohonásobně větší objem pracovní komory, až několik set ml. Mobilní fáze je před každým měřením natažena do komory a během analýzy je postupně vytlačována za použití krokového elektromotoru. Tím se zajistí bezpulzní tok kolonou bez nutnosti opětovně naplnit komoru. Nedostatkem tohoto čerpadla je nemožnost měnit složení mobilní fáze během prováděné analýzy [60]

#### 2.5.1.3 Reciproční čerpadla

K eliminaci nedostatku nemožnosti měnit složení mobilní fáze v průběhu analýzy se nejčastěji používá recipročně uspořádané čerpadlo. Píst ve válci, o objemu až stovek  $\mu\text{l}$ , periodicky nasává a vytlačí mobilní fázi. Směr toku kapaliny je zajištěn dvojicí kuličkových ventilů [60; 61].

Čerpadlo pracuje s pulzním tokem. Eliminaci tlakových pulsů se provádí zapojením druhého, případně více recipročních čerpadel do série [60; 61].

## 2.5.2 Mísení mobilní fáze

Mísení mobilní fáze se provádí dvěma způsoby [61].

### 2.5.2.1 *Za nízkého tlaku*

Pro mísení postačí pouze jediné čerpadlo, tím je tato metoda levnější. Nevýhodou je mísení mobilní fáze probíhá daleko od vstupu do kolony [61].

### 2.5.2.2 *Za vysokého tlaku*

Aparatura je sestavena ze dvou recipročních čerpadel, tím je tato metoda dražší než předešlé uspořádání. Velkou výhodou je mísení mobilní fáze v těsné blízkosti před vstupem do kolony. Je tak zajištěné skutečné složení mobilní fáze protékající kolonou, které odpovídá přesně naprogramovanému složení [61].

## 2.5.3 Dávkovací zařízení

Dávkování vzorku představuje v HPLC zvláštní problém. Je nutné zajistit nastříknutí přesně definovaného objemu vzorku do proudu mobilní fáze, která je kolonou vedena pod vysokým tlakem bez toho, aniž by došlo k významným fluktuacím průtokové rychlosti fáze [61; 62; 63].

K nejběžněji používanému dávkovacímu zařízení patří dávkovací ventil se smyčkou, nejčastěji se šesti ventily s vyměnitelnou smyčkou o definovaném objemu, která se plní injekční stříkačkou [61; 62; 63].

Objem smyčky se pohybuje od desítek nanolitrů po mililitry, objemy jsou reprodukovatelné (odchylka se pohybuje kolem 0,2 %) a lze je snadno automatizovat [61; 62; 63].

Princip nástřiku spočívá v tom, že dávkovací ventil má 6 vstupů, z nichž jsou vždy dva propojené hadičkou. Pootočením jádra ventilu dochází ke změně propojení vnitřních propojení jednotlivých dvojic vstupů. Tím se zajistí nasátí vzorku a jeho následný nástřik na kolonu [61; 62; 63].

## 2.5.4 Kolony

Separční kolony používané v HPLC musí odolávat vysokým tlakům mobilní fáze. Nejčastěji bývají vyrobené z nerezové oceli, mohou být také plastové či skleněné. Vnitřní průměr kolony se pohybuje od desítek mikrometrů až po cca 1 cm. Délka nejčastěji v rozmezí 30 – 300 mm [61; 62; 63].

Kolony jsou naplněny vhodnou stacionární fází. Nejčastěji je náplní oxid křemičitý vhodné zrnitosti, často modifikovaný navázáním vhodných funkčních skupin. Ty se navazují na povrch oxidu uhličitého a určují výslednou polaritu stacionární fáze. Z kolony je eluát následně veden do detektoru [61; 62; 63].

## 2.5.5 Detektory

Na detektory pro HPLC jsou kladeny stejné obecné požadavky jako pro plynovou chromatografii (GC). Vnitřní objem detektoru by měl být co nejmenší, aby docházelo k výrazným rozmytím elučních křivek. Signál generovaný detektorem by měl být stabilní a reprodukovatelný [61; 62; 63].



K detekci se využívají analytická vlastnosti systému, která je ve známém a reprodukovatelném, lineárně závislý na koncentraci s širokým rozsahem, co největší citlivost, co nejmenší mez detekce. Vzniklý signál by měl mít co nejmenší šum a neměl by obsahovat pomalý únik nulové linie (drift) [61; 62; 63].

Detektory se dělí na univerzální a selektivní:

#### **2.5.5.1 Univerzální:**

Měří se celkové vlastnosti systému, mezi tyto měřené vlastnosti patří index lomu, tepelná vodivost, relativní permitivita [61; 62; 63].

#### **2.5.5.2 Selektivní:**

Měří se například absorbance při konkrétní vlnové délce, elektrický proud při daném potenciálu. Jsou obvykle citlivější a vhodnější pro analýzu složek přítomných v komplikovaných maticích. V HPLC se běžně používají detektory spektrofotometrické, fluorimetrické, elektrochemické, hmotnostní a refraktometrické [61; 62; 63].

#### **2.5.5.3 Spektrofotometrické detektory**

Jsou nejpoužívanější detektory v HPLC analýze [61; 62; 63].

#### **2.5.5.4 Fluorimetrické detektory**

Využívají se pro detekci selektivních látek, které mají přirozenou fluorescenci nebo je lze převést na jejich fluoreskující derivát. Mají vyšší citlivost než UV spektrofotometrický detektor. Analit se ozařuje zářením o určité vlnové délce, excituje záření ze zdroje, kterým může být rtuťová výbojka, Lampy (deuteriové, wolframové nebo xenonové), nebo laser, a emituje záření o větší vlnové délce [61; 62; 63].

#### **2.5.5.5 Refraktometrický detektor**

Patří mezi univerzální detektory. Měří rozdíl mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze. Z důvodu malých rozdílů nepatří detektor mezi velmi citlivé. Problém je také s nemožností použití gradientové eluce a značná závislost indexu lomu na teplotě. Využívají se tehdy, když ostatní detektory neposkytují pro analyzovanou látku dostatečnou odezvu [61; 62; 63].

#### **2.5.5.6 Elektrochemický detektor**

Jedná se o selektivní detektor a vykazuje velkou citlivost. Detekce je založena na měření vodivosti iontových látek nebo na měření elektrického proudu odpovídající oxidaci nebo redukci měřeného analitu [61; 62; 63].

## **2.6 Stanovení nutričně významných prvků**

Pro analytické stanovení stopových prvků ve vzorku byla použita metoda ICP-OES neboli emisní spektrofotometrie s indukčně vázaným plazmatem. Tato metoda umožňuje stanovit téměř veškeré prvky periodické soustavy, které lze převést do roztoku. Stanovení se vyznačuje velkou citlivostí, a to od jednotek ppb až po stovky ppm [60; 61].

### **2.6.1 Instrumentace**

Zařízení se obecně skládá z budicího zdroje, optického spektrometru a elektrody s výpočetním systémem [60; 61].

### **2.6.2 Budicí zdroj**

Dodává energii potřebnou k vyvolání emise záření atomů vzorku. Vzorek se je převeden z tuhé nebo plynné fáze do plynné a v té je provedena atomizace a následně excitace elektronů. Podle typu budicího zdroje se rozdělují jednotlivé metody. Jako budicí zdroj může sloužit: Jiskrový výboj, Obloukový výboj anebo Plazmový zdroj [60; 61].

#### **2.6.2.1 Plazmový zdroj**

Plazma je vysoce ionizovaným plynem, je elektricky vodivá a navenek nevykazuje žádný náboj. Používá se indukčně vázaný výboj (Induktively Coupled Plasma – ICP). Plazma vzniká působením vysokofrekvenčního elektromagnetického pole pomocí indukční cívky v prostředí argonu. Plazmový hořák je z taveného křemene a je chlazen argonem. K vytvoření plazmatu se nejčastěji využívá snadno indukovatelného vzácného plynu argonu. Plazmový zdroj umožňuje analýzu velmi malých objemů vzorků i nekovového materiálu s vysokou citlivostí a patří k dnes nejrozšířenějšímu budicímu zdroji [60; 61].

### **2.6.3 Detekční zařízení**

V dřívějších dobách byl používán jako detektor fotografická deska. V současnosti se k detekci emitovaného záření používají převážně fotonásobiče. Existují dvě základní typy detekce, a to v sekreční a simultánním uspořádání [60; 61].

#### **2.6.3.1 Sekvenční uspořádání**

Je sestaveno z otočného monochromátoru a jednoho nebo dvou pevně umístěných fotonásobičů. Natáčením monochromátoru dochází k proměřování jednotlivých emisních čar postupně, tak jak dopadají na fotonásobič. Použití zapojení dvou fotonásobičů slouží jeden jako referenční [60; 61].

### ***2.6.3.2 Simultánní uspořádání***

Monochromátor je pevně umístěn a kolem něho jsou umístěny fotonásobiče. Díky tomuto uspořádání můžou dopadat jednotlivé proměřované spektrální čáry současně. Využívá se u dražších přístrojů, které pracujících automaticky a umožňující rychlé stanovení, které umožňuje stanovit několik desítek prvků ve vzorku najednou. Prvky měřené na přístroji spolu s předpokládanou koncentrací je nutné výrobci definovat před výrobou spektrometru [60; 61].

### 3 PRAKTICKÁ ČÁST

Cílem této bakalářské práce bylo stanovení kyseliny ferulové v různých druzích otrub běžně dostupných na trhu. Dané parametry obsahu této kyseliny byly stanoveny metodou HPLC a byly stanoveny nutričně významné prvky v původních otrubách a získaného hydrolyzátu metodou ICP opticky emisní spektrometr.

#### 3.1 Laboratorní vybavení

##### 3.1.1 Použité pomůcky

Běžné laboratorní sklo (Simax), skleněné vialky 2 ml s plastovým uzávěrem, automatické pipety 5 ml a 10 ml (Biohit, USA), špičky, plastové uzavírací zkumavky 10 ml, plastové centrifugační zkumavky s uzavíráním 45 ml, plastové stříkačky (Omifix), stříkačkové filtry (LABICOM), filtrační papíry.

##### 3.1.2 Použité chemikálie

Demineralizovaná voda, hydroxid sodný (Lachner, ČR), kyselina chlorovodíkový (Lachner, ČR), kyselina ferulová (SIGMA, Čína), methanol (SIGMA, Čína), kyselina mravenčí (Lachner, ČR), kyselina octová (Lachner, ČR), bezvodý ethanol, kyselina octová (Lachner, ČR), prvkové standardy Astatol (Analytika Praha, ČR).

##### 3.1.3 Použité přístroje

Analytické váhy GR-120 EC (Helago, ČR), laboratorní třepačka (GFL 3006), laboratorní třepačka s vyhřívaným boxem, laboratorní centrifuga Z 36 HK (HERMLE, Německo), sušárna Memmert UFE550 (Mettler, Německo), lednička s mrazničkou (Elektrolux, ČR), pH metr (), ICP opticky emisní spektrometr ULTIMA 2 (HORIBA), HPLC (Apilent Technologies).

#### 3.2 Vzorky otrub

K analýze byly použity otruby běžně dostupné na trhu pro zdravou výživu a jeden vzorek otrub pocházející přímo ze mlýna. Pro měření byly použity vzorky otrub z obilovin pšenice, pšenice špalda, žito, oves a rýže.

Tabulka 4 seznam analyzovaných vzorků

Číslo	Zkratka	Název	Původ
1	P 1	Otruby pšenice	Místní mlýn, ČR
2	P 2	Otruby pšenice	BIO harmonie, ČR
3	Š	Otruby špaldové	BIO harmonie, ČR
4	Ž	Otruby žitné	Přírodní produkty, ČR
5	R	Otruby rýžové	Natural, USA
6	O	Otruby ovesné	Country life, EU

### 3.3 Postup práce

U analyzovaných vzorků byla provedena analýza obsahu kyseliny ferulové získané alkalickou hydrolyzou. Také bylo provedeno extrakce otrub a získaného pevného podílu po alkalické hydrolyze pro prvkovou analýzu. Podrobnější postup ke každému stanovení je uveden níže.

#### 3.3.1 Postup hydrolyzy vzorků a stanovení obsahu kyseliny ferulové v extraktech

##### 3.3.1.1 Alkalická hydrolyza vzorků

Před samotnou hydrolyzou byly vzorky otrub homogenizovány v třecí misce s tloučkem. Do 50 ml Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo cca 1 gram vzorku takto upravených otrub. Do každé baňky bylo přidáno po 30 ml 0,5 M roztoku hydroxidu sodného. Obsah byl třepán na vyhřívané třepačce s nastavenou teplotou na 50 °C. Celková doba hydrolyzy byla 4 hodiny. Všechny vzorky byly připraveny v duplikátech.

##### 3.3.1.2 Neutralizace, srážení, filtrace a uchovávání hydrolyzátu

Hydrolyzované vzorky byly zneutralizované přidáním cca 4 ml roztoku 3 M kyseliny chlorovodíkové na pH 7. Z takto zneutralizovaného roztoku bylo třeba vysrážet hemicelulózy. To bylo provedeno přidáním 75 ml bezvodého ethanolu. Celková doba srážení byla 5 minut. Po této době byl obsah přefiltrován v Buchnerově nálevce přes kvantitativní papírový filtr. Získané filtráty byly uchovány do doby provedení analýzy v mrazničce při teplotě -20 °C.

##### 3.3.1.3 Stanovení obsahu kyseliny ferulové v extraktech pomocí HPLC

Pro kvantifikaci kyseliny ferulové ve vzorcích byla vytvořena kalibrační křivka. Kalibrační roztok v rozsahu koncentrací 10 – 25 – 50 – 100 – 200 mg.l<sup>-1</sup>. Zásobní standard pro sestavení kalibrační křivky byl připraven z čisté kyseliny ferulové a naředěn methanolem HPLC čistoty.

Extrakty jednotlivých vzorků byly přefiltrovány stříkačkovými filtry 0,45 µm do 1,5 ml vialek. Jako mobilní fáze byla použita směs methanolu a 0,5% roztoky kyseliny mravenčí. Identifikace probíhala za použití UV/VIS detektoru pro nastavenou vlnovou délku 330 nm. Podrobnější nastavení přístroje HPLC pro stanovení kyseliny ferulové popisuje tabulka 5. Vlastnosti použité kolony popisuje tabulka 6. Pro separaci byla použita gradientová eluce, jejíž průběh je znázorněn v tabulce 7.

Tabulka 5 nastavení přístroje pro stanovení kyseliny ferulové

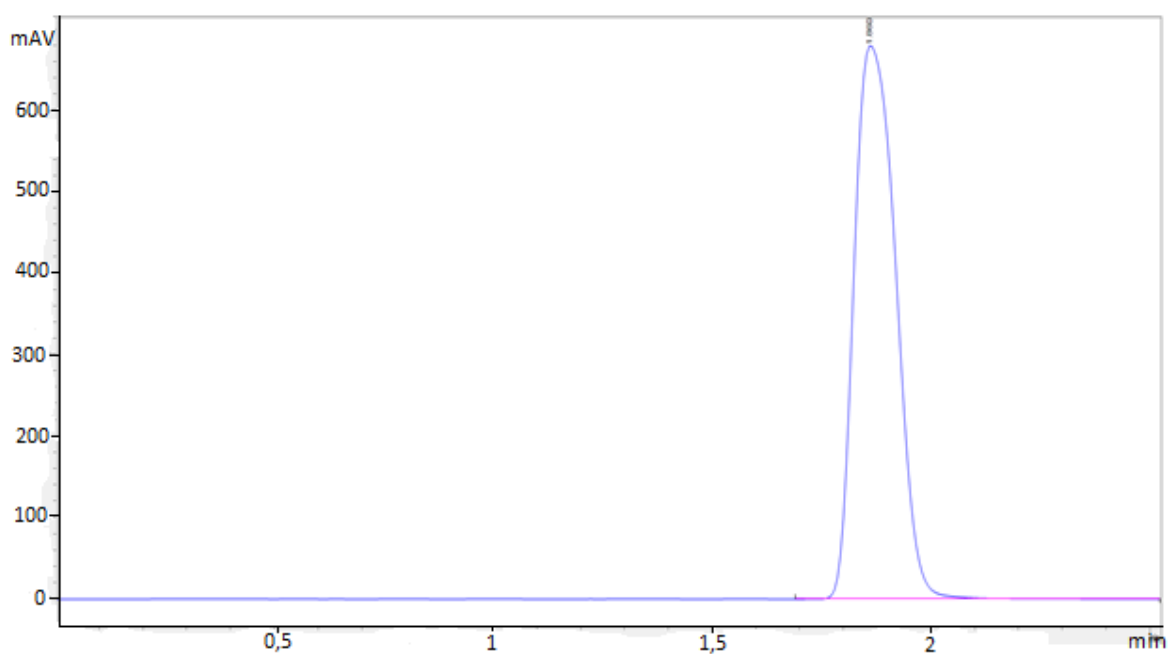
Název a typ přístroje	HPLC Agilent 1260 Infinity
Objem nástriku	3 µl
Průtok mobilní fáze	0,7 ml.min <sup>-1</sup>
Výchozí složení mobilní fáze	5 % methanol, 95 % kyselina mravenčí (0,5%)
Teplota	30 °C
Detekce	330 nm
Detektor	UV/VIS
Doba analýzy	40 min

Tabulka 6 vlastností použité kolony.

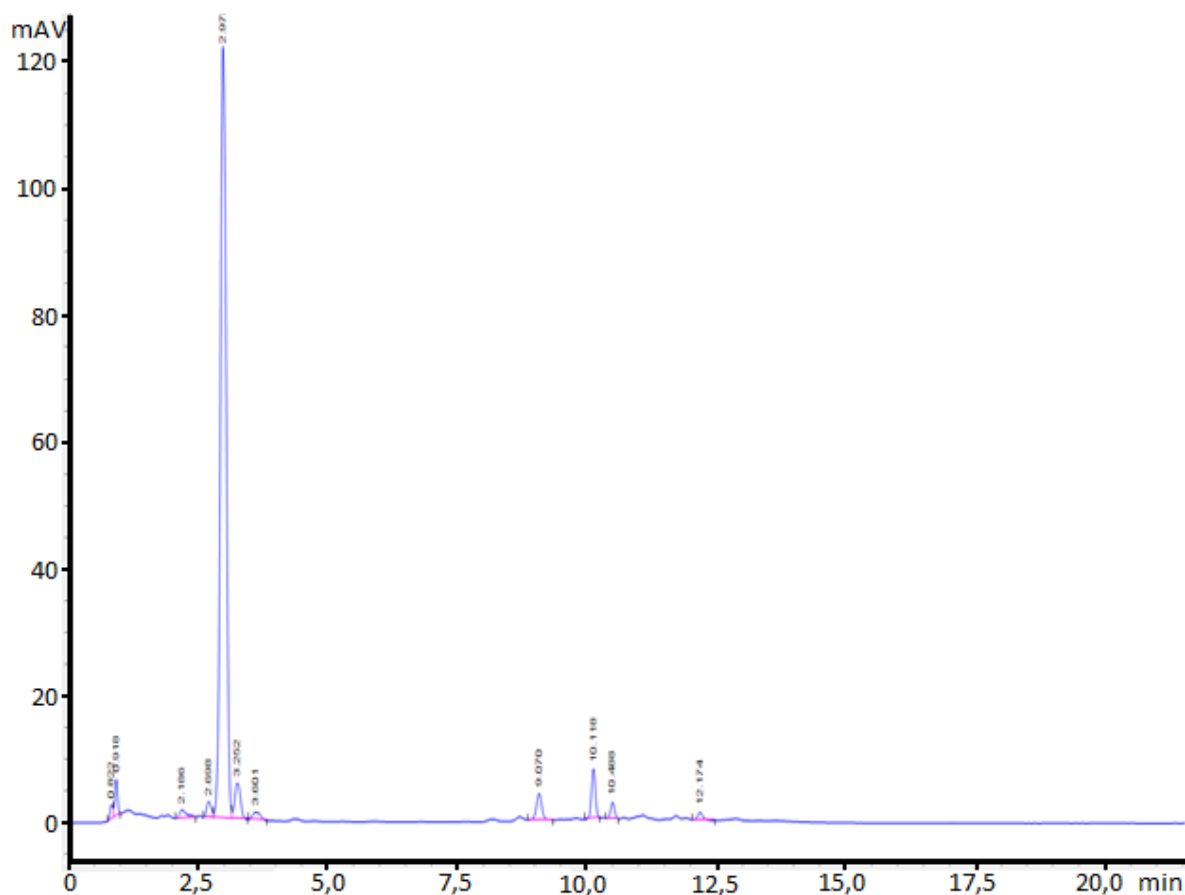
<b>výrobce</b>	Phenomenex
<b>velikost</b>	LC Column 100 × 3,0 mm
<b>popis</b>	Kinetex® 2,6 µm EVO C18 100 Å

Tabulka 7 gradientová eluce

Čas [min]	Kyselina octová [%]	Methanol [%]	Acetonitril [%]
<b>0</b>	95	5	0
<b>4</b>	80	20	0
<b>10</b>	60	20	20
<b>30</b>	95	5	0
<b>40</b>	95	5	0



Obrázek 13 chromatogram standartu kyseliny ferulové při vlnové délce 330 nm



Obrázek 14 chromatogram vzorku pšenice 1 při 330 nm

### 3.3.2 Extrakce a stanovení minerálních nutrientů z otrub a hydrolyzovaných zbytků

#### 3.3.2.1 Příprava vzorků otrub a zhydrolyzovaných otrub pro solid – liquid extrakci

Vzorky otrub byly upraveny podle stejného postupu jako v případě alkalické hydrolýzy. Zhydrolyzované otruby byly převedeny do Petriho misek a následně sušeny v elektrické sušárně při 80 °C do konstantní hmotnosti. Takto vysušený materiál byl homogenizován v třecí misce.

#### 3.3.2.2 Extrakce minerálních látek

Do 100 ml Erlenmeyerových baněk bylo odváženo cca 1 g vzorků otrub a vysušených hydrolyzovaných zbytků. K navážce bylo pipetou odměřeno 50 ml okyselené demineralizované vody (pH 5,5) a obsah byl třepán při laboratorní teplotě na reciproční třepačce po dobu 48 h.

### 3.3.2.3 Úprava a uchovávání extraktu pro prvkovou analýzu

Po extrakci byl obsah přenesen do centrifugačních zkumavek a následně centrifugován při 4 000 ot. min<sup>-1</sup>, 5 minut při 20 °C. Získaný supernatant byl opatrně převeden do plastových zkumavek. Do provedení analýzy byly získané vzorky extraktů uchovávány v mrazničce při -20 °C.

### 3.3.2.4 Prvková analýza vodného extraktu z otrub a vytěženého materiálu

Získaných 12 vzorků bylo rozmrazeno na laboratorní teplotu, přefiltrovány přes stříkačkový filtr do plastových zkumavek a za použití ICP-OES byl stanoven obsah nutričně významných prvků.

Pro stanovení prvků ve vzorcích extraktů byly vytvořeny dvě metody měření na ICP-OES. Měření byla realizována pomocí přístroje Horiba Jobin Yvone, typ Ultima 2. Přístroj generoval plazmu v konfiguraci s radikálním uložením plazmového hořáku. Jako plazmový plyn a plyn pro proplach optiky byl využíván argon.

V rámci ICP-OES stanovení bylo v extraktech měřeno celkem 8 prvků: Cu, Fe, Mn, P, Zn, Ca, K, Mg. Prvky Ca, K, Mg byly měřeny separátní metodou (metoda2), z důvodu relativně nízkého ionizačního potenciálu ve srovnání s ostatními měřenými prvky potenciálu. Optimalizace metody je uvedena byla zaměřena na maximalizaci poměru signálu k šumu na charakterizovaných vlnových délkách. Vlnové délky pro měření byly zvoleny na základě studia Atlasu spektrálních interferencí pro ICP spektrometrii. Parametry měření jsou vedeny v tabulkách 8,9 a 10.

Tabulka 8

Prvek	Vlnová délka [nm]	Napětí fotonásobiče [V]	Vstupní štěrбина [μm]	Výstupní štěrбина [μm]
Cu	327,396	750	20	15
Fe	259,940	735	20	15
Mn	257,610	650	20	15
P	213,628	750	20	15
Zn	206,191	750	20	15
Ca	393,366	711	20	15
K	766,490	849	20	15
Mg	285,213	605	20	15

Tabulka 9

	Metoda 1	Metoda 2
Výkon [W]	1400	1200
Otáčky pumpy [ot.min <sup>-1</sup> ]	18	15
Plazmový plyn [l.min <sup>-1</sup> ]	12,5	14
Stínící plyn [l.min <sup>-1</sup> ]	0,2	0,8
Tlak na zmlžovači [bar]	3	3

Kalibrační křivka pro kvantifikaci jednotlivých analytů byla sestavena pomocí série standardů připravených z výchozích roztoků o koncentraci 1 g.l<sup>-1</sup>. Zvolený koncentrační rozsah je uveden v tabulce 10.



Tabulka 10

Prvek	Koncentrační rozsah	Jednotka
Ca, K, Mg	1-5-10-20-40	mg.l <sup>-1</sup>
Cu, Fe, Mn, P, Zn,	0,01-0,05-0,1-0,2-0,5	mg.l <sup>-1</sup>

### 3.4 Statistické zpracování výsledků

Naměřená data byla zpracována programem Microsoft EXCEL, kde byla výpočtem z kalibračních křivek získána koncentrace kyseliny ferulové a jednotlivých prvků ve všech vzorcích. Statistická analýza byla provedena použitím analýzy rozptylu metody ANOVA, která má za cíl zjistit, zdali mezi naměřenými skupinami dat existují statistické rozdíly nebo jsou rozdíly způsobeny pouze náhodnými chybami. Pro účel analýzy rozptylu byly definovány dvě hypotézy, nulová hypotéza, která předpokládá, že mezi jednotlivými vzorky neexistují rozdíly ve výtěžnosti kyseliny ferulové alkalickou hydrolýzou. V případě zamítnutí této hypotézy (parametr F je větší než  $F_{krit}$  a parametr P je menší než  $\alpha$ ) platí alternativní hypotéza, že mezi jednotlivými druhy otrub existují statisticky významné rozdíly. Stejně hypotézy byly vytvořeny i pro statistickou analýzu všech prvků v otrubách, hydrolyzátech i při porovnání těchto dvou skupin. Pro všechny statistické zpracování byla ANOVA nastavena na interval spolehlivosti 95 %. Veškeré hodnoty jsou uvedeny a zhodnoceny v diskuzi.

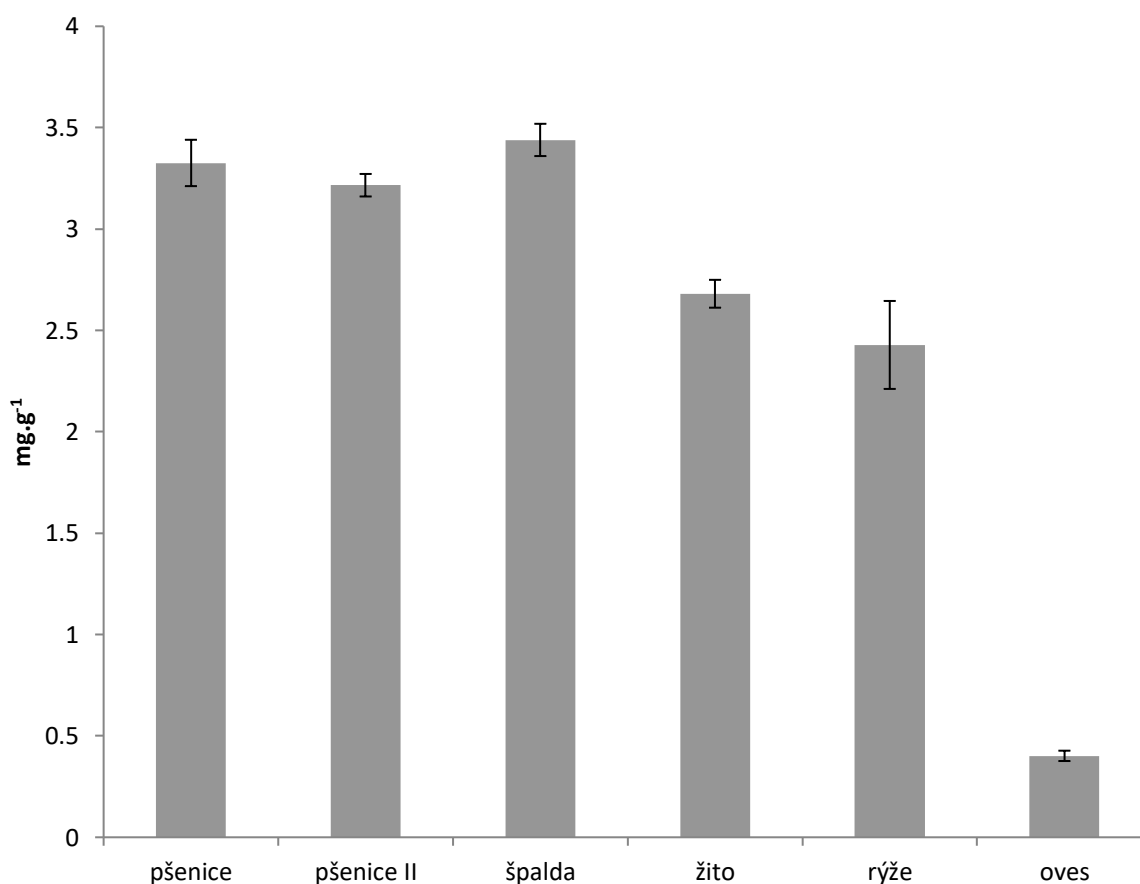
Pro rozřazení vzorků do skupin podle podobnosti průměrného obsahu kyseliny frerulové byla použita metoda vícenásobného porovnání (Tukeyho test). Pro toto stanovená byla vytvořena nulová hypotéza, že se střední hodnoty koncentrace kyseliny ferulové neliší. V případě zamítnutí této hypotézy platí alternativní hypotéza, že se střední hodnoty koncentrace kyseliny ferulové liší.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

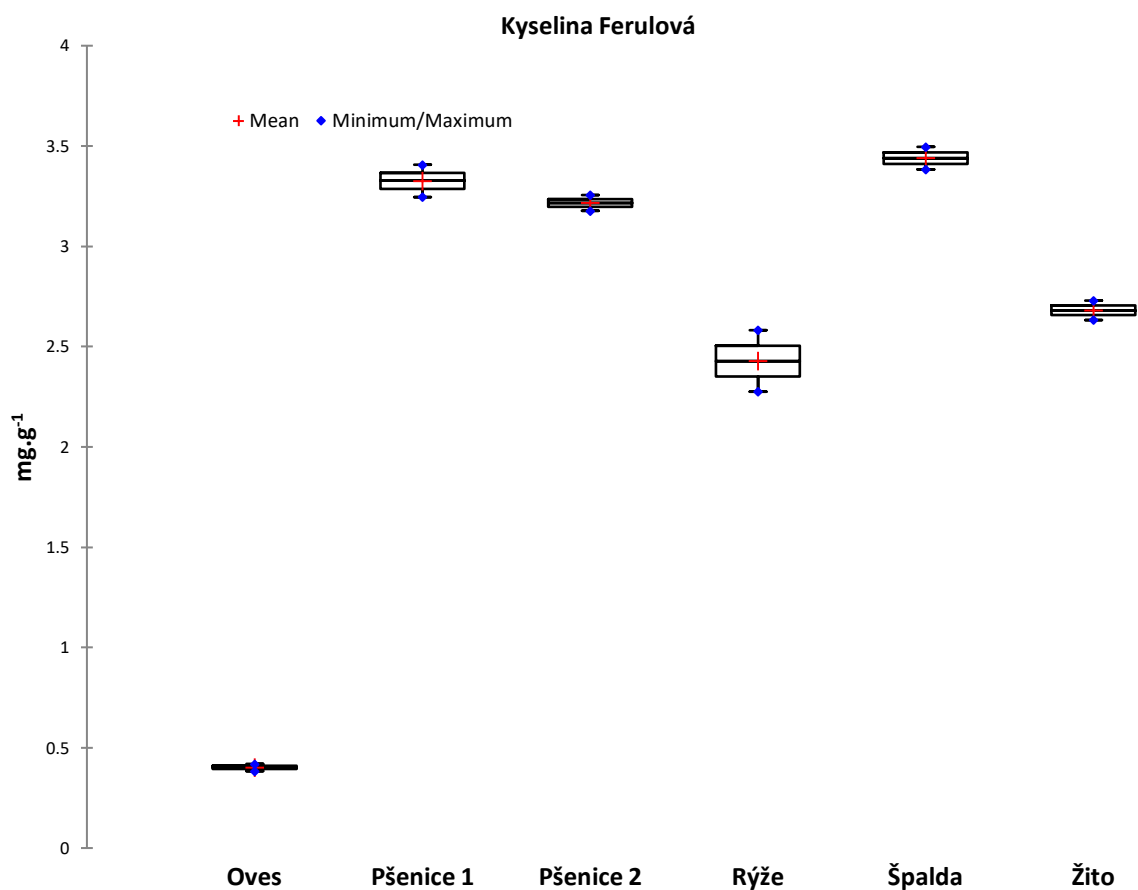
V této kapitole jsou uvedeny získané výsledky a provedena jejich diskuze. Jsou komentovány rozdíly jednotlivých výtěžků v rámci rozdílnosti jednotlivých vzorků.

### 4.1 Porovnání rozdílů obsahu kyseliny ferulové v extraktech z různých druhů otrub

Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 10 a jsou znázorněny ve sloupcovém i boxovém grafu (obr. 15 a 16). Získané data byly analyzovány metodou ANOVA ( $F_{\text{krit}} = 4,39$ ;  $\alpha = 0,05$ ). Z výsledků této analýzy je na první pohled patrné, že parametr  $F$  je větší než  $F_{\text{krit}}$  a parametr  $P$  je menší než  $\alpha$  ( $P < 0,0001$  a  $F 207,6964$ ). Tím jsou zřejmé statisticky významné rozdíly v průměrném obsahu kyseliny ferulové v extraktech a je tak potvrzena prvotní hypotéza, že mezi jednotlivými druhy otrub existují rozdíly. Data byly také zpracovány Tukeyho testem, díky kterému byly vzorky rozděleny do třech skupin podle podobnosti svých výtěžků kyseliny ferulové. Rozdělení bylo uskutečněno do skupin A (s nejvyšší výtěžností), B (se středním výtěžkem) a C (s nejnižším výtěžkem). Podrobnější diskuze k výtěžkům u jednotlivých vzorků je provedena u jednotlivých skupin podle rozřazení vzorků do těchto skupin.



Obrázek 15 sloupcový graf výtěžku kyseliny ferulové v závislosti na druhu obiloviny



Obrázek 16 boxový graf výtěžku kyseliny ferulové u jednotlivých vzorků

Tabulka 11 průměrné výtěžky kyseliny ferulové u vzorků otrub

vzorek	Výtěžek kyseliny ferulové [mg.g <sup>-1</sup> ]	rozřazení
<b>Pšenice 1</b>	3,33 ± 0,11	A
<b>Pšenice 2</b>	3,22 ± 0,06	A
<b>Špalda</b>	3,44 ± 0,08	A
<b>Žito</b>	2,68 ± 0,07	B
<b>Rýže</b>	2,43 ± 0,22	B
<b>Oves</b>	0,40 ± 0,03	C

## Skupina A

Do této skupiny byly zařazeny vzorky, které vykazovaly nejvyšší průměrnou výtěžnost kyseliny ferulové alkalickou hydrolýzou. Konkrétně se jedná o vzorky Pšenice 1 ( $3,33 \pm 0,11 \text{ mg.g}^{-1}$ ), Pšenice 2 ( $3,22 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a Špalda ( $3,44 \pm 0,08 \text{ mg.g}^{-1}$ ) u které byl získán nejvyšší výtěžek.

Při porovnání výsledků je také na první pohled patrné, že do skupiny A byly zařazeny otruby pouze jednoho rostlinného rodu, a to rodu pšenice. Při porovnání výtěžnosti vzorků této skupiny lze vypořadovat, že rozdíl mezi jednotlivými pšeničnými druhy se významně neliší. Odlišnost mezi vzorky, hlavně mezi vzorky pšenice 1 a pšenice 2, lze připisovat pěstitelským podmínkám, podmínkám při skladování ale především statistické chybě použitého přístroje.

Podle literatury (Apprich, 2013) se obsah kyseliny ferulové v pšeničných otrubách se pohybuje v rozmezí  $0,2 - 15 \text{ mg.g}^{-1}$ . Výsledky této bakalářské práce do tohoto rozmezí spadají [4].

Při porovnání získaných výsledků s hodnotou ve studii Burova a Mazzy (2009), který se také zabýval alkalickou hydrolýzou pšeničných otrub, patrný mírný rozdíl. V rámci experimentu docílili výtěžku  $3,91 \text{ mg.g}^{-1} \pm 0,39 \text{ mg.g}^{-1}$  kyseliny ferulové [44]. Tato odlišnost byla nejspíše způsobena faktem, že obsah fenolických sloučenin v otrubách je velmi závislý na pěstitelských podmínkách. Tento fakt podporuje i zmíněné místo původu vzorků použitých v tomto článku, kde vzorky byly vypěstovány na polích poblíž města Pentcicton, které se nachází na západním pobřeží, ve státě Britská Kolumbie v Kanadě a vzorky použité v této práci pochází z České republiky. V těchto dvou regionech je výrazně odlišné podnebí, kdy v oblasti Pentcinton převládá subarktické podnebí a v České republice dochází k mísení oceánského a kontinentálního podnebí.

K extrakci kyseliny ferulové z otrub lze kromě alkalické hydrolýzy také použít hydrolýzu enzymatickou. Tou se zabýval Marcotuli (2016) a dosáhl výtěžku kyseliny ferulové v pšeničných otrubách  $1,654 \pm 0,1376 \text{ mg.g}^{-1}$ . Při porovnání výtěžků je patrné, že při použití enzymatické hydrolýzy je výtěžek dvakrát menší než v případě alkalické hydrolýzy a lze tak říci že alkalická hydrolýza je v případě pšenice výhodnější pro získání této látky vzhledem k výtěžnosti, rychlosti a snadnější manipulaci [64].

## Skupina B

Do této skupiny byly zařazeny dva vzorky a to Žito ( $2,68 \pm 0,07 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a Rýže ( $2,43 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Při srovnání se skupinou A je patrný značně nižší obsah kyseliny ferulové v extraktu. Tuto skupinu lze charakterizovat tak že zahrnuje otruby se středním obsahem kyseliny ferulové a tím lze předpokládat využití těchto otrub pro získání kyseliny ferulové by bylo ekonomicky výhodné zejména v zemích, kde produkce těchto obilovin převyšuje nad obilovinami ze skupiny A (pšenice)

Z žitných otrub bylo v průměru vyextrahováno nejvíce kyseliny ferulové v této skupině ( $2,68 \pm 0,07 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Při porovnání výtěžku s článkem od Andreasen a kol. (2000) ve kterém získaly výtěžek  $3,72 \text{ mg.g}^{-1}$  a  $2,02 \text{ mg.g}^{-1}$  při použití alkalické hydrolýzy při nižší teplotě, je patrná rozdílnost získaných dat. Tuto rozdílnost lze připisovat rozdílné metodice, kde na výtěžnost měla vliv teplota při extrakci ale také samotný vzorek žita z důvodu rozdílného obsahu kyseliny ferulové v různých žitných druzích [65]. Celosvětově žito nepatří k významným obilovinám, jeho produkce výrazně zaostává za pšenicí, a proto by se její zpracování na získání kyseliny ferulové nevyplatilo.

U rýže byl výtěžek  $2,43 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$  kyseliny ferulové. (Truong, 2017) porovnával výtěžnost u různých druhů rýžových otrub z jeho výsledků lze dojít k jednoznačnému závěru, že na rozdíl od pšenice je obsah kyseliny ferulové závislý na rodu rýže [66]. Z vyextrahovaného množství lze také zmínit, že námi použitá metoda na rozdíl od enzymatické je účinnější. Rozdílná výtěžnost u jednotlivých rýžových rodů je způsobena rozdílnou stavební strukturou zrna.

Produkce rýže převládá v asijských zemích, odkud se do celého světa vyváží většina rýže určená pro přímou konzumaci. V těchto zemích by rýže jakožto zdroj kyseliny ferulové byl ekonomicky výhodný. Procento rýže, které se zpracovává na mouku, je však nízké. Pokud se přihlídneme k rozdílnému zastoupení kyseliny ferulové v různých rýžových rodech je možné najít výhodný ekonomický kompromis

## Skupina C

Do této skupiny byl zařazen vzorek Oves ( $0,40 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a lze vyvést jednoznačný závěr, že ze vzorku ova byl získán nejnižší výtěžek ze všech vzorků. Díky této skutečnosti lze vyslovit, že oves není vhodnou vstupní surovinou pro získávání kyseliny ferulové.

V literatuře (Walters, 2018) se zabývaly výtěžkem kyseliny ferulové extrakcí ovesných otrub hexanem,  $35,3 \pm 0,22 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ . Při porovnání těchto výtěžků vzhledem k rozdílné extrakční metodě lze říci, že pouhou extrakcí otrub v hexanolu bylo docíleno mnohem menšího výtěžku než alkalickou hydrolýzou [67].

Nízký obsah kyseliny ferulové nejspíše souvisí s tím, že oves patří k nejodolnějším obilovinám, tím lze předpokládat významně rozdílná struktura obalových vrstev zrna. Fenolické kyseliny také hrají významnou roli při ochraně rostliny před vnějšími vlivy například volnými radikály či mikroorganismy a díky růst v nepříznivých podmínkách se oves adaptovala a tím využívá vlastností tohoto prostředí pro svou vlastní ochranu. Oves nepatří k rostlinám, které mají velké technologické uplatnění a její převážné zpracování je v podobě ovesných vloček a v použití jako krmivo pro hospodářská zvířata. Proto její produkce otrub není významná s porovnáním ostatních a s nízkou koncentrací kyseliny ferulové je tedy naprosto nevhodnou vstupní surovinou pro její získání.

## 4.2 Stanovení minerálních látek

Analýza obsahu minerálních látek u vzorků byla provedena u původních otrub a získaného pevného podílu po hydrolýze otrub.

Otruby jakožto potenciálního zdroje minerálních látek mají jedno z využití jako minerální hnojivo, to bylo předmětem zkoumání Attoe a kol. (2016) kteří na základě experimentu na poli zjistily významný rozdíl mezi růstem rostlin na půdě hnojené otrubami a půdě nehnojené [68].

Obsah minerálů je významný pro další zpracování pevného podílu po hydrolyzaci získaného jako odpadní produkt při získání fenolických kyselin, díky kterému by bylo možné jej využít stejně otruby a to jako minerální hnojivo pro novou výsadbu obilovin v nadcházejícím roce. Další možné využití by bylo jako substrát pro plynotvorné bakterie.

Problém pro tyto využití se týká vyššího obsahu sodíku převážně ve formě chloridu sodného vzniklého při neutralizační reakci hydrolyzované směsi. Rostlinám vyšší obsah chloridu sodného v půdě nesvědčí ba i může působit inhibičně, to samé platí i pro mikroorganismy, které snesou pouze určitou koncentraci soli v živném médiu na rozdíl od rostlin, kdy mají mikroorganismy je relativně vysoká tolerance k obsahu soli, které se pohybuje v rozmezí 10 až 20 % a u některých druhů mikroorganismů druhu Archea je tato tolerance i větší.

U všech vzorků byla metodou ICP-OES stanoveny nutričně významné prvky a to vápník, draslík, železo, hořčík, měď, zinek, fosfor, mangan. Získané výsledky popisují tabulky 6-12 a jsou znázorněny obrázky 14-21. Naměřená data byla zpracována metodou ANOVA

Výsledky analýzy rozptylu v rámci rozdílů ve výtěžnostech minerálních látek pro otruby jsou prezentovány v tabulce 12. Z těchto hodnot je na první pohled patrné, že pro všechny měřené prvky platí, že parametr P je menší než  $\alpha$  a parametr F je větší než  $F_{kritické}$ . Tím je potvrzeno, že mezi jednotlivými druhy otrub jsou statisticky významné rozdíly.

Vyhodnocení rozdílů ve výtěžnosti u hydrolyzovaného zbytku jsou prezentovány v tabulce 13. Dle výsledku ANOVA je zřejmé, že stejně jako u původních otrub platí pro všechny měřené prvky, že parametr P je menší než  $\alpha$  a parametr F je větší než  $F_{kritické}$ . Tím se potvrzuje, že i mezi získanými hydrolyzáty existují statisticky významné rozdíly.

Poslední vyhodnocení rozdílů obsahu minerálních látek se týkalo rozdílů mezi otrubami a jejich hydrolyzovaným zbytkem. Tyto výsledky jsou prezentovány v tabulce 14. Z těchto hodnot je patrné, že u všech prvků je parametr P menší než  $\alpha$  a parametr F je větší než  $F_{kritické}$ . Tím je patrná statisticky významná odlišnost mezi průměrným výtěžkem v původních otrubách a získaném hydrolyzátu.

Podrobná diskuze týkající se extrakce jednotlivých minerálních látek je uvedena níže.

Tabulka 12 ANOVA otruby ( $F_{kritické} = 3,11$ ;  $\alpha = 0,05$ )

	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>
<b>F</b>	4896,6432	2417,6584	135,9653	350,9233	352,2269	342,5211	447,7210	871,1378
<b>P</b>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabulka 13 ANOVA hydrolyzát ( $F_{kritické} = 3,11$ ;  $\alpha = 0,05$ )

	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>
<b>F</b>	367,8883	487,0353	457,4489	112,8932	415,3213	153,9704	293,4912	177,6083
<b>P</b>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabulka 14 ANOVA otruby vs hydrolyzát ( $F_{kritické} = 3,11$ ;  $\alpha = 0,05$ )

	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>
<b>F</b>	465,8312	875,5200	272,4919	297,3794	611,6164	286,3230	773,8915	542,0556
<b>P</b>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Tabulka 15 průměrné výtěžky Cu, Fe, Mn, P u vzorků otrub

Vzorek	Cu [ng.g <sup>-1</sup> ]	Fe [μg.g <sup>-1</sup> ]	Mn [μg.g <sup>-1</sup> ]	P [mg.g <sup>-1</sup> ]
Pšenice 1	98,79 ± 6,89	3,98 ± 0,19	82,45 ± 5,21	14,41 ± 0,72
Pšenice 2	1933,09 ± 54,51	3,07 ± 0,07	84,70 ± 6,16	18,30 ± 0,71
Špalda	999,98 ± 34,60	2,14 ± 0,29	105,52 ± 6,53	17,41 ± 0,79
Žito	104,62 ± 5,76	8,93 ± 0,63	43,23 ± 2,36	7,01 ± 0,14
Rýže	3966,21 ± 66,68	27,35 ± 0,17	192,91 ± 17,07	20,66 ± 0,25
Oves	103,20 ± 3,63	4,98 ± 0,33	42,04 ± 1,65	5,81 ± 0,46

Tabulka 16 průměrné výtěžky Zn, Ca, K, Mg u vzorků otrub

Vzorek	Zn [μg.g <sup>-1</sup> ]	Ca [μg.g <sup>-1</sup> ]	K [mg.g <sup>-1</sup> ]	Mg [mg.g <sup>-1</sup> ]
Pšenice 1	17,88 ± 1,02	540,65 ± 25,20	15,48 ± 0,14	3,79 ± 0,17
Pšenice 2	18,95 ± 0,48	382,80 ± 6,92	17,11 ± 0,88	4,47 ± 0,24
Špalda	34,17 ± 0,14	738,55 ± 19,23	27,83 ± 0,99	6,76 ± 0,18
Žito	28,99 ± 1,89	660,00 ± 4,77	15,98 ± 0,86	3,28 ± 0,17
Rýže	16,57 ± 0,45	480,28 ± 10,61	31,97 ± 1,02	9,66 ± 0,15
Oves	2,01 ± 0,06	334,58 ± 9,98	5,80 ± 0,10	1,33 ± 0,03

Tabulka 17 průměrné výtěžky Cu, Fe, Mn, P u vzorů hydrolyzátů

Vzorek	Cu [ng.g <sup>-1</sup> ]	Fe [μg.g <sup>-1</sup> ]	Mn [μg.g <sup>-1</sup> ]	P [mg.g <sup>-1</sup> ]
Pšenice 1	12934,25 ± 935,56	18,56 ± 1,05	10,18 ± 0,34	6,52 ± 0,62
Pšenice 2	3924,13 ± 161,86	20,44 ± 0,94	16,07 ± 0,36	9,77 ± 0,97
Špalda	6087,97 ± 102,02	23,22 ± 0,10	12,17 ± 0,75	9,47 ± 0,35
Žito	2842,26 ± 87,93	9,24 ± 0,41	4,07 ± 0,25	3,27 ± 0,02
Rýže	1943,23 ± 85,68	9,03 ± 0,13	11,76 ± 0,16	7,86 ± 0,48
Oves	1039,44 ± 4,14	3,89 ± 0,10	3,92 ± 0,16	1,86 ± 0,09

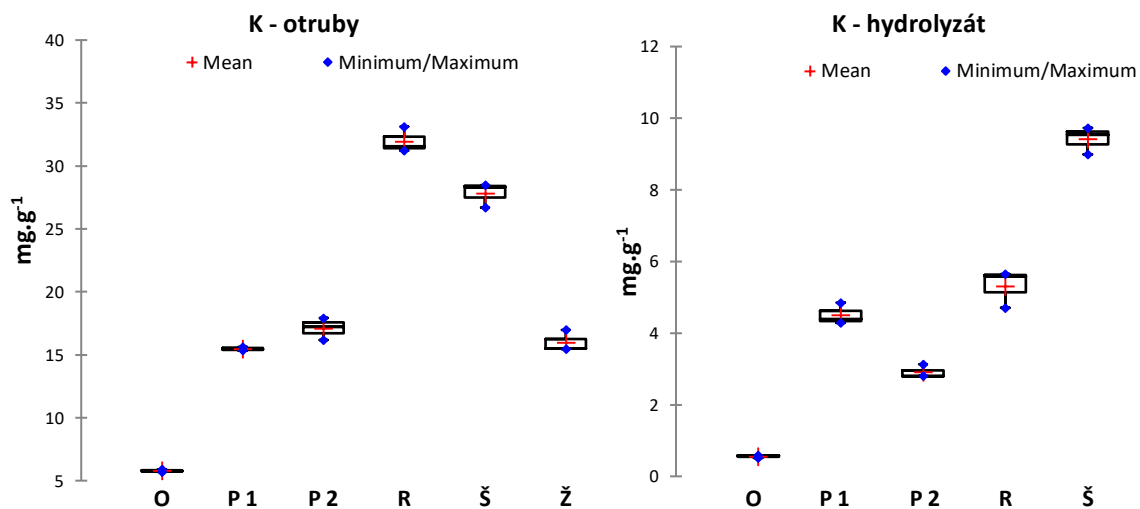
Tabulka 18 průměrné výtěžky Zn, Ca, K, Mg u vzorků hydrolyzátů

Vzorek	Zn [μg.g <sup>-1</sup> ]	Ca [μg.g <sup>-1</sup> ]	K [mg.g <sup>-1</sup> ]	Mg [mg.g <sup>-1</sup> ]
Pšenice 1	1,95 ± 0,10	447,82 ± 24,98	4,51 ± 0,30	2,69 ± 0,13
Pšenice 2	5,80 ± 0,14	408,02 ± 23,32	2,91 ± 0,19	3,25 ± 0,15
Špalda	5,23 ± 0,35	326,74 ± 10,08	9,42 ± 0,38	3,78 ± 0,27
Žito	3,02 ± 0,03	473,13 ± 28,31	2,93 ± 0,03	1,31 ± 0,06
Rýže	3,23 ± 0,19	100,89 ± 1,09	5,31 ± 0,53	2,68 ± 0,16
Oves	0,10 ± 0,01	281,72 ± 11,95	0,56 ± 0,04	0,67 ± 0,03

## Draslík

Výtěžnost draslíku v jednotlivých vzorcích prezentují tabulky 16 a 18. Výsledky byly zakresleny do obrázku 17. Při srovnání výtěžku draslíku u jednotlivých vzorků je patrné, že nejvyšší výtěžek v původních otrubách byl získán ve vzorku rýžových otrub ( $31,97 \pm 1,02 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Při porovnání tohoto výtěžku s výtěžkem draslíku ve vzorku rýžového hydrolyzátu ( $5,31 \pm 0,53 \text{ mg.g}^{-1}$ ) je zřejmá nižší výtěžnost draslíku. Z tohoto výsledku je patrné, že výtěžnost v hydrolyzátech je přibližně 6 krát nižší. Klesající trend se opakuje i u ostatních vzorků. Druhým vzorkem s nejvyšším množstvím draslíku v otrubách byly Špalda ( $27,83 \pm 0,99 \text{ mg.g}^{-1}$ ). U tohoto vzorku byla získána nejvyšší koncentrace draslíku v hydrolyzátu ( $9,42 \pm 0,38 \text{ mg.g}^{-1}$ ) to je téměř dvojnásobné množství získané u rýžového hydrolyzátu. Dalším vzorkem je pšenice 2 s  $17,11 \pm 0,88 \text{ mg.g}^{-1}$  v otrubách a s obsahem  $2,91 \pm 0,19 \text{ mg.g}^{-1}$  se řadí na čtvrtou pozici společně se vzorkem žito  $15,98 \pm 0,86 \text{ mg.g}^{-1}$  v otrubách a  $2,93 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$  v hydrolyzátu. Dalším vzorkem je vzorek pšenice 1 s výtěžkem  $15,48 \pm 0,14 \text{ mg.g}^{-1}$  a  $4,51 \pm 0,30 \text{ mg.g}^{-1}$ . Na vzorcích pšenice je patrná mírná odlišnost v obsahu draslíku tím je patrná odlišnost způsobená různými pěstitelskými podmínkami. Z výsledků je patrné že vzorek oves má nejnižší obsah draslíku v otrubách  $5,80 \pm 0,10 \text{ mg.g}^{-1}$  a hydrolyzátu  $0,56 \pm 0,43 \text{ mg.g}^{-1}$ . Z výsledků lze říci že nejlepším vzorkem jakožto zdrojem draslíku jsou rýžové otruby, co se týká hydrolyzátu je nejlepší zdrojem vzorek špalda.

Draslík patří k velmi důležitým nutričním prvkům v rostlinách ovlivněn enzymatickou aktivitu, podílí se na udržování buněčné elektroneutality. Nedostatek draslíku se projevuje tvorbou hnědých skvrn na listech rostliny. Jeho nedostatek může způsobit že rostlina je následně náchylnější k mrazovému poškození a vůči chorobám.



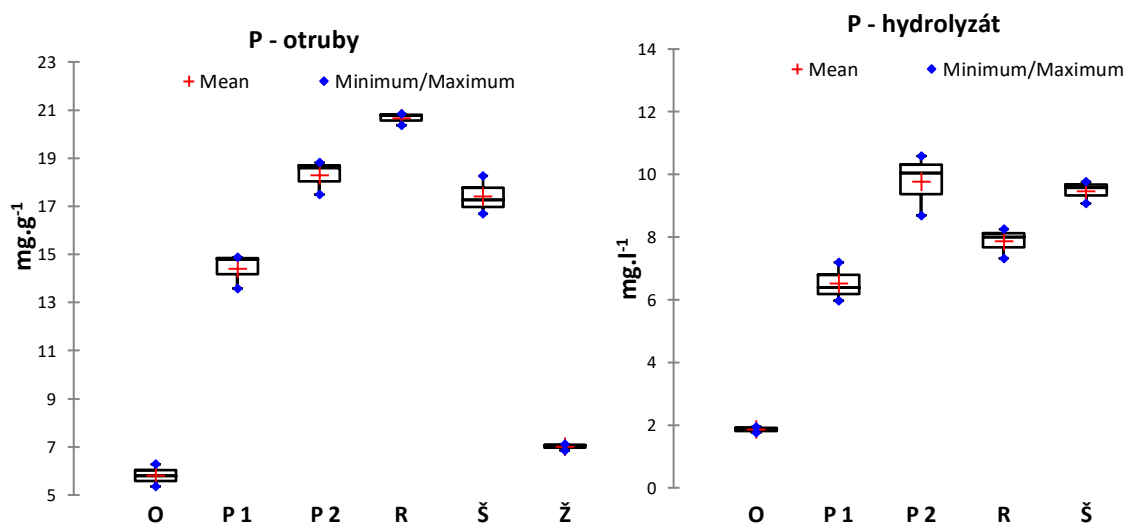
Obrázek 17 boxové grafy obsahu draslíku ve vzorcích otrubách a hydrolyzátů  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)



## Fosfor

Výsledky prezentují tabulky 15 a 17 a jsou graficky znázorněny na obrázku 18. Při porovnání těchto výtěžků je patrné statisticky významná odlišnost mezi jednotlivými vzorky. Nejvyšší obsah fosforu v extraktu byl připraven extrakcí rýžových otrub ( $20,66 \pm 0,25 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Výtěžek v hydrolyzovaných rýžových otrubách byl  $7,86 \pm 0,48 \text{ mg.g}^{-1}$  a to je nižší výtěžek přibližně 2,5 krát. Nejvyšší výtěžek u extraktu hydrolyzovaných otrub byl u vzorku *pšenice 2* ( $9,77 \pm 0,71 \text{ mg.g}^{-1}$ ). V původních otrubách tohoto vzorku byl výtěžek  $18,30 \pm 0,71 \text{ mg.g}^{-1}$ , to byl druhý nejvyšší výtěžek v celém experimentu. Podobnou výtěžnost u hydrolyzátu jako *pšenice 2* měl i vzorek vyextrahovaný ze špaldových otrub  $9,47 \pm 0,35 \text{ mg.g}^{-1}$  v původních špaldových otrubách byla extrahovatelnost  $17,41 \pm 0,79 \text{ mg.g}^{-1}$ . U vzorku *pšenice 1* byl výtěžek v nehydrolyzovaných otrubách  $14,41 \pm 0,72 \text{ mg.g}^{-1}$  a v extraktu pšeničného hydrolyzátu byla výtěžnost  $6,52 \pm 0,62 \text{ mg.g}^{-1}$ . U vzorku *žita* byla získána průměrná výtěžnost v otrubním extraktu  $7,01 \pm 0,14 \text{ mg.g}^{-1}$  u extraktu z žitného hydrolyzátu bylo získáno  $3,27 \pm 0,02 \text{ mg.g}^{-1}$ . Nejnižší výtěžnost byla docílena u vzorku *oves* a to v extraktu otrub ( $5,86 \pm 0,46 \text{ mg.g}^{-1}$ ) i v extraktu hydrolyzátu ( $1,86 \pm 0,09 \text{ mg.g}^{-1}$ ).

Fosfor je pro rostliny důležitý z důvodu že hraje roli v procesu přenosu energie a je strukturní složkou fosfolipidů, nukleových kyselin, nukleotidů, koenzimů a fosfolipidů. Průměrný rostlinný odběr fosforu činí 15-45 kg P na ha. Nedostatek se projevuje celkovým zpomalením růstu rostliny. Obsah fosforu v půdě se pohybuje od 0,03-0,013 %, proto je nutné donášat rostlinám fosfor hnojivy pro zajištění správného růstu.

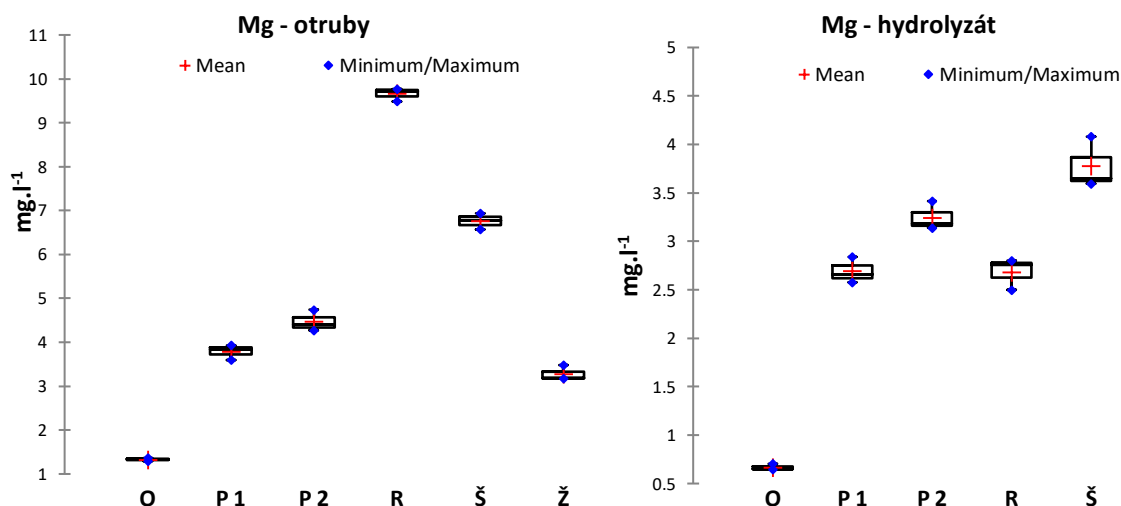


Obrázek 18 boxové grafy výtěžku fosforu ve vzorcích otrub a hydrolyzátů  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)

## Hořčík

Výsledky průměrných výtěžků prezentují tabulky 16 a 18 a jsou graficky znázorněny na obrázku 19. Z výsledků je patrné, že u všech vzorků existují statisticky významné rozdíly v obsahu hořčíku mezi jednotlivými vzorky. U vzorku *ryže* byl extrakcí původních otrub získán nejvyšší obsah hořčíku ze všech vzorků ( $9,66 \pm 0,15 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Při porovnání tohoto výtěžku s výtěžkem hořčíku získaného z rýžového hydrolyzátu ( $2,68 \pm 0,16 \text{ mg.g}^{-1}$ ) je patrné, že došlo k snížení jeho obsahu v extraktu hydrolyzovaných otrub. Tento klesající trend platí i pro ostatní otruby je způsoben tím, že část hořčíku přešla do roztoku už během hydrolýzy. Nejvyšším výtěžnost hořčíku v extraktu zhydrolyzovaných otrub byl získán u vzorku *špalda* ( $3,78 \pm 0,27 \text{ mg.g}^{-1}$ ). U původních špaldových otrubách byl výtěžek nižší ( $6,76 \pm 0,18 \text{ mg.g}^{-1}$ ) ale i tak byl po rýžových otrubách druhý nejvyšší ze všech vzorků. Druhý nejvyšší obsah hořčíku u hydrolyzovaných otrub byl získán u vzorku *pšenice 2* ( $3,25 \pm 0,15 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Extrakcí původních otrub tohoto vzorku bylo získáno  $4,47 \pm 0,24 \text{ mg.g}^{-1}$  hořčíku. Extrakcí zhydrolyzovaného zbytku vzorku *pšenice 1* byl získán obsah  $2,69 \pm 0,13 \text{ mg.g}^{-1}$  hořčíku v extraktu původních pšeničných otrub byl výtěžek  $3,79 \pm 0,17 \text{ mg.g}^{-1}$ . Při porovnání obou výtěžků s výtěžky vzorku *pšenice 2* je patrná odlišnost. Tato odlišnost byl nejspíše způsobena pěstitelské podmínky. Výtěžnost hořčíku u vzorku žita, byly v případě extraktu žitných otrub  $3,28 \pm 0,17 \text{ mg.g}^{-1}$  a v případě extraktu z hydrolyzovaných otrub  $1,31 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$ . Vzorek s nejnižším obsahem hořčíku v extraktu původních otrub i hydrolyzovaného zbytku byl vzorek *oves* a to s výtěžkem  $1,33 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$  získaného v otrubách a  $0,67 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$  v extraktu hydrolytického zbytku.

Hořčík je hlavní ložkou molekuly chlorofylu a díky hraje důležitou roli při fotosyntéze a tím se podílí na řadě reakcí probíháných v rostlině. V půdě se celkový obsah hořčíku pohybuje 0,4-0,6 % z tohoto obsahu je přibližně 10-15 % hořčíku využitelný pro rostliny. Nedostatek se u rostliny projeví mramorovanými bledými lsty. Díky vysokým ztrátám hořčíku  $8\text{-}20 \text{ kg.ha}^{-1}$  za rok je nutné ho dodávat.



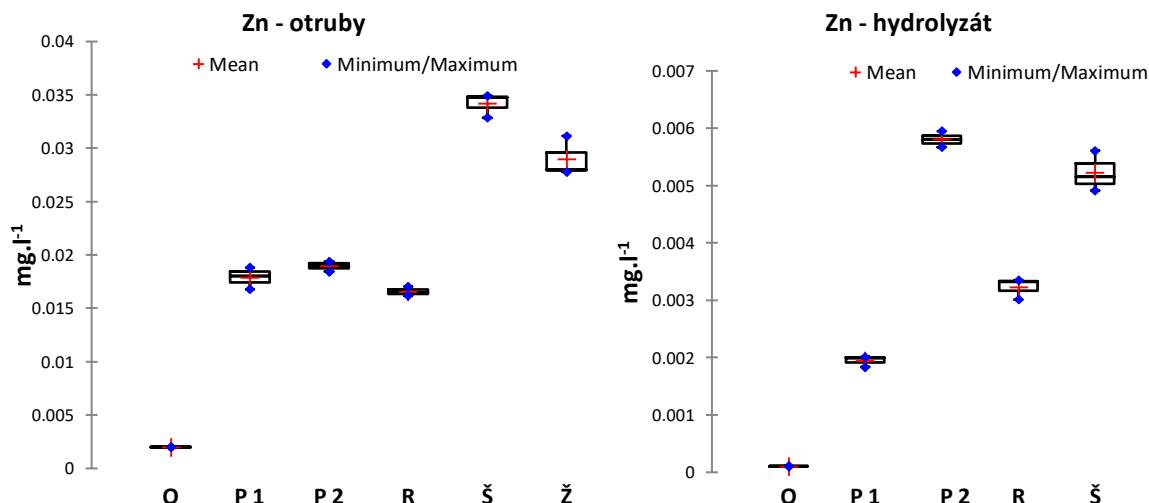
Obrázek 19 boxové grafy výtěžku hořčíku u vzorků otrub a hydrolyzátů  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)

## Zinek

Výsledky průměrné výtěžnosti zinku prezentují tabulky 16 a 18 a jsou graficky znázorněny na obrázku 20. Při porovnání těchto hodnot je hned na první pohled patrný statistický rozdíl v obsahu zinku mezi všemi vzorky. Nejvyšší obsahem zinku v extraktu z původních otrub byl získán u vzorku *špalda* ( $34,18 \pm 0,14 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Při porovnání této hodnoty s hodnotou získanou z hydrolyzátu špaldových otrub ( $5,23 \pm 0,35 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je patrný pokles obsahu zinku u extraktů z hydrolyzovaných otrub toto platí i pro ostatních vzorky. Nejvyšším obsahem zinku získaného u hydrolyzovaných trub byl získán extrakcí vzorek *pšenice 2* ( $5,80 \pm 0,14 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). V extraktu z původních otrub tohoto vzorku byl výtěžek  $18,95 \pm 0,48 \mu\text{g.g}^{-1}$ . U vzorku *pšenice 1* bylo extrakcí původních otrub získáno  $17,88 \pm 1,02 \mu\text{g.g}^{-1}$  zinku, V extraktu z těchto hydrolyzovaných otrub byl výtěžek zinku nižší ( $1,95 \pm 0,10 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Při porovnání těchto výtěžků s výtěžky vzorku *pšenice 2* je zřejmá odlišnost, způsobená nejpravděpodobněji pěstitelskými podmínkami.

Druhý nejvyšší obsah zinku u extraktu původních otrub byl získán u vzorku *žita* ( $28,99 \pm 1,89 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). U hydrolyzátu žitných otrub byl obsah zinku nižší ( $3,02 \pm 0,03 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Podobný výtěžek u hydrolyzovaných otrub je u tohoto vzorku byl získán extrakcí hydrolyzovaných rýžových otrub ( $3,23 \pm 0,19 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Extrakcí v původních rýžových otrubách bylo docíleno vyššího výtěžku ( $16,57 \pm 0,45 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Nejnižší výtěžnost zinku byla opětovně docílena u vzorku *ovsa*, kde v extraktu ovesných otrub bylo získáno  $2,01 \pm 0,06 \mu\text{g.g}^{-1}$  a extrakcí zhydrolyzovaných ovesných otrub výtěžek pouhých  $0,10 \pm 0,01 \mu\text{g.g}^{-1}$ .

Hořčík zastává významnou roli při regulaci metabolismu nukleových kyselin, bílkovin cukrů a inhibuje aktivitu ribonukleázy v rostlinných pletivech. Nedostatek se projevuje zakrslým vzrůstem, asymetrickým tvarem listů a jejich menším počtem. Obsah zinku v ornici je 10-300 ppm, obsah využitelného zinku rostlinami činí 0,2-2,0 ppm.

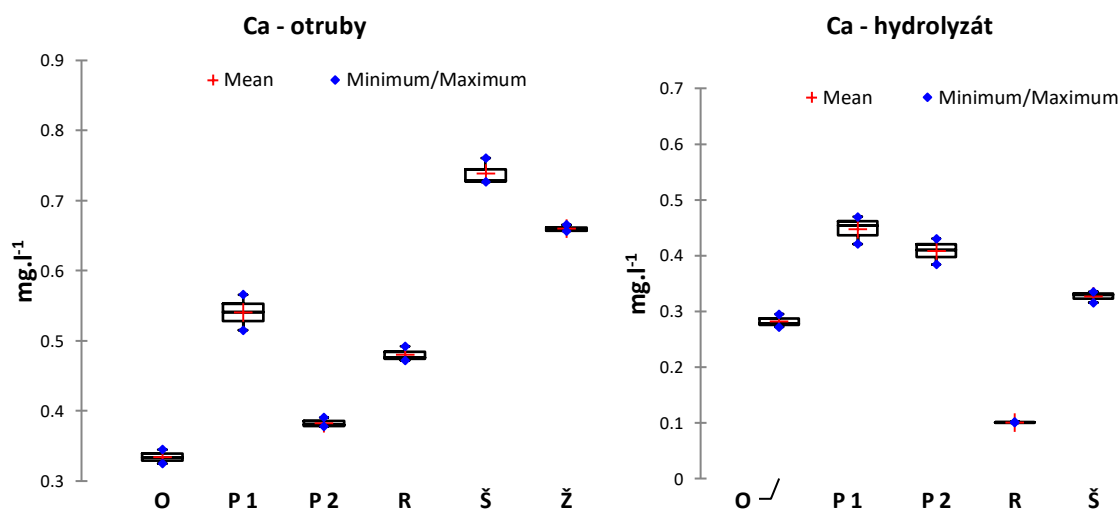


Obrázek 20 krabicové grafy výtěžku zinku ve vzorcích otrub a hydrolyzátů  
(O-ovsa, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)

## Vápník

Průměrné výtěžky prezentují tabulky 16 a 18 a jsou graficky znázorněny na obrázku 21. Při porovnání těchto výtěžků je patrná odlišnost v obsahu vápníku mezi jednotlivými vzorky. Vzorek s nejvyšším výtěžkem vápníku byl připraven extrakcí špaldových otrub ( $738,55 \pm 19,23 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Extrakcí hydrolyzovaných špaldových otrub bylo získáno nižšího výtěžku vápníku ( $326,74 \pm 10,08 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Při porovnání těchto výtěžků je patrné že došlo k poklesu obsahu vápníku v extraktech vzorků po hydrolyze. Výjimku, u které k tomuto poklesu nedošlo, tvoří vzorek *pšenice 2*. U tohoto vzorku bylo získáno extrakcí otrub výtěžek  $382,80 \pm 6,92 \mu\text{g.g}^{-1}$  ale při extrahování z hydrolyzovaného zbytku tohoto vzorku bylo získáno  $408 \pm 23,32 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Tento trend se u dalších vzorků neopakuje. V případě vzorku *pšenice 1* byl zisk vápníku  $540,65 \pm 25,20 \mu\text{g.g}^{-1}$  v extraktu z původních otrub a při porovnání s obsahem vápníku získaného extraktu z hydrolyzovaného zbytku ( $447,82 \pm 24,98 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je patrný mírný pokles. Tato odlišnost těchto dvou vzorků pšenice lze nejspíše přisoudit rozdílnou strukturou pletiva, kdy po hydrolyze vzorku *pšenice 2* došlo k lepší dostupnosti vápníku ze vzorku. Nejvyšší výtěžnost vápníku z hydrolyzovaných extraktů bylo docíleno u vzorku *žito* ( $473,13 \pm 28,31 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). V původních žitných otrubách byl zisk vápníku  $660,00 \pm 4,77 \mu\text{g.g}^{-1}$ . U vzorku *ryže* bylo docíleno nejnižšího výtěžku vápníku ze všech extraktů hydrolyzovaných vzorků ( $100,98 \pm 1,09 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). U extraktu z původních rýžových otrub byla výtěžnost  $480,28 \pm 10,61 \mu\text{g.g}^{-1}$ . U vzorku ovsu byl získán druhý nejnižší obsah vápníku u hydrolyzovaných otrub ( $281,72 \pm 11,95 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Ale při porovnání tohoto výtěžku z ovesných otrub ( $334,58 \pm 9,98 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je zřejmé, že bylo docíleno nejnižšího výtěžku ze všech vzorků původních otrub.

v půdě se obsah vápníku pohybuje mezi 0,15-6 %. Vápník je v půdě důležitý biogenním elementem ale také působí v půdě na mnoho vlastností (úprava pH, aktivita mikroorganismů).

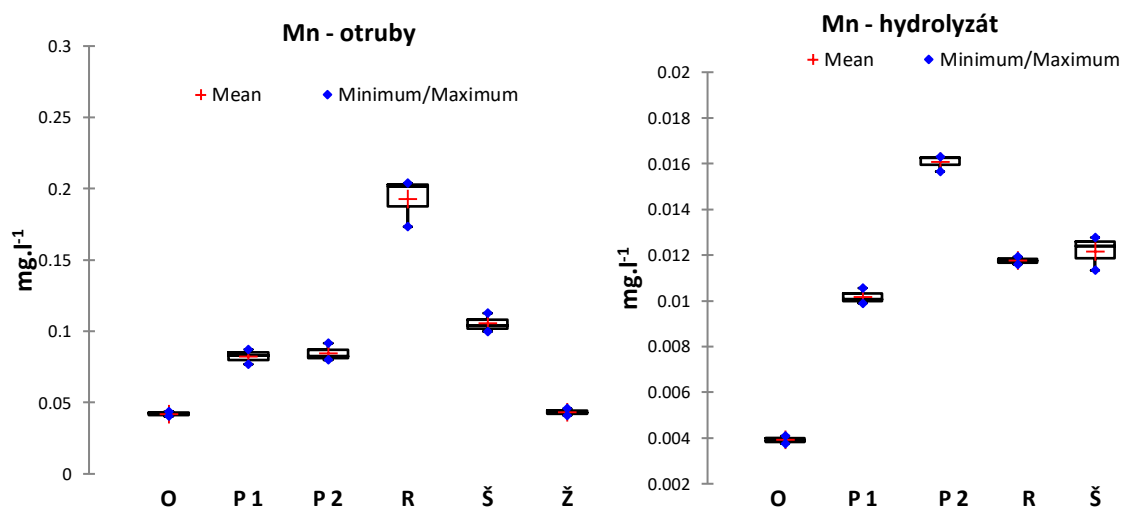


Obrázek 21 krabicové grafy obsahu vápníku ve vzorcích otrub a hydrolyzátů  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-ryže, Š-špalda, Ž-žito)

## Mangan

Při porovnání výtěžků, které jsou prezentovány v tabulkách 15 a 17 a graficky znázorněny na obrázku 22 je na první pohled patrné, že mezi jednotlivými vzorky existují statistické rozdíly v obsahu manganu. Nejvyšší výtěžnost manganu u extraktu z původních otrub bylo docíleno u vzorku *rýže* ( $192,91 \pm 17,07 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Výtěžek získaného extrakcí zhydrolyzovaných rýžových otrub ( $11,76 \pm 0,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) byl mnohonásobně nižší. Tato klesající závislost platí i u ostatních vzorků. Druhá nejvyšší výtěžnost manganu u extraktů z otrub bylo docíleno u vzorku *špalda* ( $105,52 \pm 6,53 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Zisk manganu v extrahovaných hydrolyzovaných špaldových otrub byl  $12,17 \pm 0,75 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Nejvyšší výtěžek ze všech hydrolyzovaných vzorků bylo docíleno extrakcí vzorku *pšenice 2* ( $16,07 \pm 0,36 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). V původních otrubách tohoto vzorku byl extrahován výtěžek  $84,70 \pm 6,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ . U vzorku *pšenice 1* bylo vyextrahováno z původních otrub  $82,45 \pm 5,21 \mu\text{g.g}^{-1}$ . V extraktu hydrolyzovaného vzorku *pšenice 1* obsah byl obsah 1 manganu nižší ( $0,18 \pm 0,34 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). Při porovnání všech výtěžků vzorků obou pšenic je hned patrná odlišnost ve výtěžku manganu. Tato odlišnost byla nejspíše způsobena rozdílnými pěstitelskými podmínkami. vzorků *žita* a *ovsa* bylo získáno celkově nízkých výtěžků. U vzorku *žita* byla výtěžnost manganu u žitných otrub  $43,22 \pm 2,36 \mu\text{g.g}^{-1}$ , v případě hydrolyzovaného žitného zbytku byla výtěžnost  $4,07 \pm 0,25 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Nejnižší výtěžek v extraktu z původních otrub byl docílen u ovesných otrub ( $42,04 \pm 1,65 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). V případě extraktu ovesného hydrolyzátu bylo rovněž nejnižšího výtěžku ze všech hydrolyzovaných vzorků ( $3,92 \pm 0,16 \mu\text{g.g}^{-1}$ ).

Obsah veškerého manganu v půdě kolísá v rozmezí 0,01-0,29 %. Mangan je pro rostliny důležitý z důvodu že slouží jako aktivátor některých enzymů, podílí se na dýchacím řetězci, syntéze aminokyselin, ligninu a hormonů.

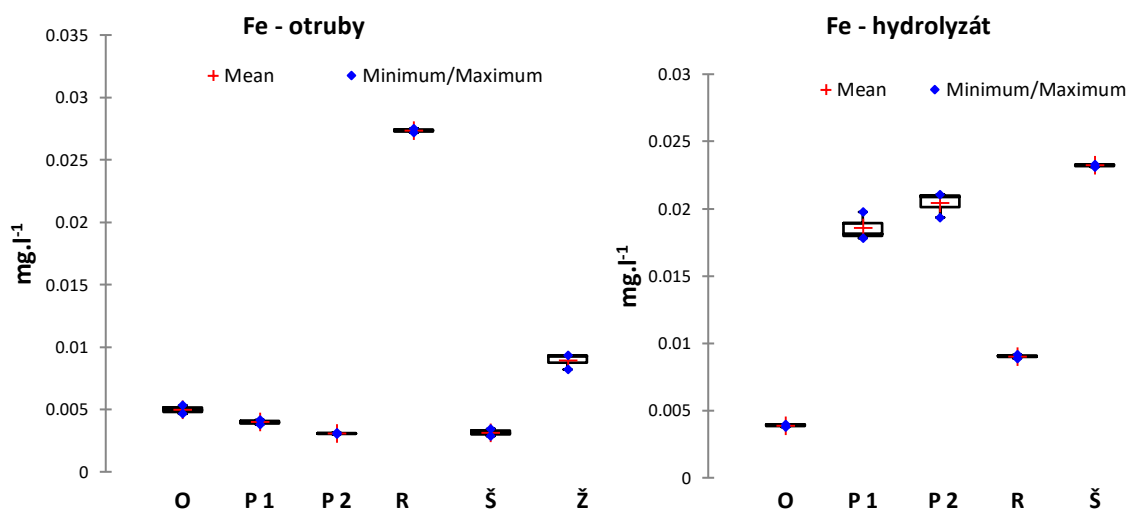


Obrázek 22 boxové grafy výtěžku manganu u vzorků otrub a hydrolyzátů  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)

## Železo

Výsledky průměrného obsahu železa jsou prezentovány v tabulkách 15 a 17 a jsou graficky znázorněny na obrázku 23. Při porovnání těchto výtěžků je na první pohled patrné, že v obsahu železa u jednotlivých vzorků existují patrné rozdíly. Také je zřejmé, že v extraktech rýžových otrub bylo nejvyšší výtěžnost železa ( $27,35 \pm 0,17 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) ze všech vzorků. Při porovnání tohoto výtěžku s výtěžkem extrakce rýžového hydrolyzátu ( $9,03 \pm 0,13 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je patrný pokles obsahu železa v hydrolyzovaných otrubách. Tento klesající charakter je společný ještě se vzorkem *ovsa*. U tohoto vzorku bylo extrakcí získáno výtěžku  $4,98 \pm 0,33 \mu\text{g.g}^{-1}$  v původních otrubách. Při porovnání s extrakcí ovesného hydrolyzátu ( $3,89 \pm 0,10 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je patrné, že bylo získáno nejnižšího výtěžku ze všech vzorků. U ostatních vzorků bylo docíleno díky hydrolyze lepší dostupnosti železa a tím byla výtěžnost vyšší u hydrolyzovaných vzorků. Nejvyšší výtěžnost u hydrolyzovaných otrub byla docílena u vzorku *špalda* ( $23,22 \pm 0,10 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). V původních otrubách tohoto vzorku bylo extrakcí získáno menšího výtěžku ( $2,14 \pm 0,29 \mu\text{g.g}^{-1}$ ). U vzorků pšenice 1 bylo extrakcí původních otrub docíleno výtěžku  $3,98 \pm 0,19 \mu\text{g.g}^{-1}$  zatímco extrakcí hydrolyzovaných otrub bylo docíleno obsahu železa  $18,56 \pm 0,05 \mu\text{g.g}^{-1}$ . U vzorku *pšenice 2* byla výtěžnost otrubového extraktu  $3,07 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Při porovnání tohoto výtěžku s výtěžkem po extrakci zhydrolyzovaných otrub ( $20,44 \pm 0,94 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) je patrné že došlo k zvýšení obsahu železa téměř sedmkrát. U vzorku *žita* bylo docíleno extrakcí žitných otrub druhého nejvyššího výtěžku železa ( $8,93 \pm 0,63 \mu\text{g.g}^{-1}$ ) ze všech otrubových extraktů. Extrakcí žitných hydrolyzovaných otrub byl zisk  $9,24 \pm 0,41 \mu\text{g.g}^{-1}$  železa. Při porovnání s předešlým výtěžkem je patrné, že u vzorku *žita* došlo k nejnižšímu přírůstku železa.

V rostlině se železo podílí na tvorbě chlorofylu a bílkovin. Jeho nedostatek se projeví chlorózou. Celkový obsah železa v půdě je poměrně vysoký.

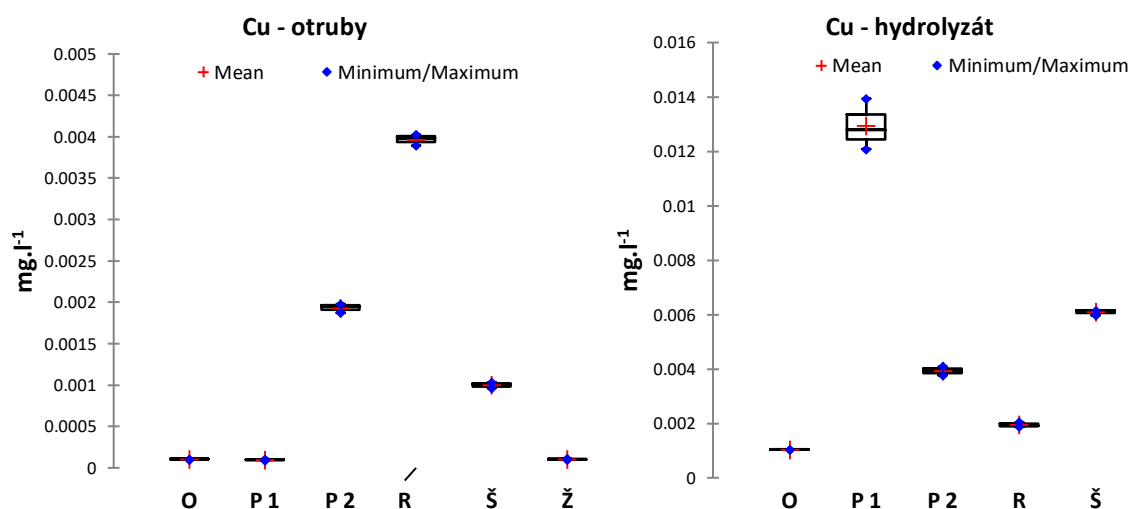


Obrázek 23 boxové grafy výtěžnosti železa ve vzorcích otrub a hydrolyzátů  
(O-ovsa, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-rýže, Š-špalda, Ž-žito)

## Měď

Průměrné výtěžky mědi jsou prezentovány v tabulkách 15 a 17 a jsou graficky znázorněny na obrázku 24. Při porovnání těchto hodnot je na první pohled patrné, že mezi obsahem mědi ve vzorcích existují významné rozdíly. Také je patrné, že výtěžnost u extraktu původních otrub je mnohokrát menší než u extraktů získaných z otrub hydrolyzovaných. Hydrolyza zpřístupnila měď vázanou v rostlinných materiálech, která byla poté snáze vyluhovatelná. Jedinou výjimku u které neplatí zmíněná vlastnost zvýšení výtěžku mědi po hydrolyze je vzorek *ryže*. U extraktu rýžových otrub bylo docíleno nejvyšší výtěžnost mědi ( $3966,21 \pm 66,68 \text{ ng.g}^{-1}$ ). Při porovnání s výtěžkem u hydrolyzátu ( $1943,23 \pm 85368 \text{ ng.g}^{-1}$ ) je patrný onen pokles ve výtěžnosti. Důvodem je rozdílná struktura obalových vrstev, které obsahují více volné mědi. Nejvyšší výtěžek mědi u extraktů hydrolyzovaných zbytků bylo docíleno u vzorku *pšenice 1* ( $12934,25 \pm 935,56 \text{ ng.g}^{-1}$ ). Při porovnání s výtěžkem u původních otrub ( $98,79 \pm 6,89 \text{ ng.g}^{-1}$ ) je patrné již zmíněné mnohonásobné zvýšení. U vzorku *pšenice 2* bylo získaného extrakcí hydrolyzovaných otrub výtěžek mědi  $3924,13 \pm 161,86 \text{ ng.g}^{-1}$ . V extraktu původních otrub tohoto vzorku bylo získáno  $1933,09 \pm 54,51 \text{ μg.g}^{-1}$  mědi. Při porovnání s výtěžky získaných u vzorku pšenice 1 je patrný výrazný rozdíl. Který byl nejspíše způsobený pěstitelskými podmínkami i rozdílnou strukturou vzorků. Druhý nejvyšší výtěžek mědi u hydrolyzovaných vzorků byl získán u extraktu špaldového hydrolyzátu ( $999,98 \pm 0,03 \text{ ng.g}^{-1}$ ). V původních špaldových otrub bylo extrakcí získáno  $6087,97 \pm 102,02 \text{ ng.g}^{-1}$  mědi. Vzorek žitných otrub obsahoval nejmenší obsah mědi ( $104,62 \pm 5,76 \text{ ng.g}^{-1}$ ). Extrakcí zhydrolyzovaných žitných otrub bylo získáno  $2842,26 \pm 87,93 \text{ ng.g}^{-1}$  mědi. Nejnižší výtěžnost ze všech vzorků bylo získáno u vzorku ovesa a to v obou případech. V extraktu ovesných otrub byl získán obsah mědi  $103,20 \pm 3,63 \text{ ng.g}^{-1}$ . Ve vzorku ovesného hydrolyzátu bylo extrakcí získáno  $1039,44 \pm 4,14 \text{ ng.g}^{-1}$ , to je přibližně desetinásobné zvýšení.

Obsah mědi v půdě je uváděn v rozmezí  $2\text{--}180 \text{ mg.kg}^{-1}$ , vlivem biologické sorpce klesá její koncentrace s hloubkou profilu. Ve vysokých koncentracích je měď pro rostliny toxická. V rostlině není měď příliš mobilní a její nejvyšší koncentrace je v chloroplastech. V rostlině plní funkci katolického prvku, je složkou proteinu v chloroplastech.



Obrázek 24 boxové grafy výtěžnosti mědi ve vzorcích otrub a hydrolyzátu  
(O-oves, P 1-pšenice 1, P 2- pšenice 2, R-ryže, Š-špalda, Ž-žito)

### **Celkové vyhodnocení výtěžnosti minerálních látek z otrub a hydrolyzovaného materiálu**

Při porovnání celkové výtěžnosti všech prvků u otrub je na první pohled patrné, že nejlepším zdrojem minerálních prvků jsou otruby rýžové, které obsahovaly u většiny minerálních látek nejvyšší výtěžnost, u ostatních prvků byla u ní výtěžek taky vysoký ale ne nejvyšší.

Na druhou stranu otrub naprosto nevhodných jako minerální zdroj jsou otruby ovesné, které vykazovaly nejnižší výtěžnost u všech analyzovaných prvků.

U hydrolyzovaných zbytků byla výtěžnost u většiny několikanásobně menší. Nejvyšší výtěžnost minerální látek byla celkově získána u hydrolyzátů otrub špaldových a pšenice 2. Hydrolyzát špaldových otruby lze brát jako nejlepší zdroj minerálních látek vzhledem k celkovým vysokým výtěžkům u všech prvků.



## 5 ZÁVĚR

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo posouzení výtěžnosti kyseliny ferulové z různých druhů obilných otrub. Kyselina ferulová byla extrahována z otrub alkalickou hydrolýzou a izolována mechanismem srážení hemicelulóz. Analýzou dat s využitím statistické metody ANOVA byly zjištěny rozdíly ve vytěženém množství kyseliny ferulové mezi jednotlivými druhy otrub. Bylo analyzováno celkem 6 vzorků otrub: dva druhy pšenice, pšenice špalda, žito, oves, rýže. Všechny vzorky byly hydrolyzovány, sráženy a filtrovány. V získaném filtrátu byl stanoven metodou HPLC obsah kyseliny ferulové.

Mezi jednotlivými vzorky byly v obsahu kyseliny ferulové zjištěny významné odlišnosti. Z výsledků lze říci, že mezi vzorky s nejvyšším výtěžkem patřily otruby obilniny druhu pšenice, u kterých byly výtěžnost velmi podobná (*Pšenice 1*  $3,33 \pm 0,11 \text{ mg.g}^{-1}$ , *Pšenice 2*  $3,22 \pm 0,06 \text{ mg.g}^{-1}$  a *Špalda*  $3,44 \pm 0,08 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Tím lze předpokládat minimální závislost na druhu této obiloviny. Nejvyšší výtěžek všeobecně byl docílen u pšenice špalda, které společně s pšeničnými obilovinami jsou nejvhodnějším zdrojem kyseliny ferulové. U ostatních vzorků byly výtěžnost nižší. Nejnižší výtěžnost byla docílena u ovesných otrub ( $0,40 \pm 0,03 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Díky tomuto nízkému výtěžku je lze označit za naprosto nevhodnou surovinu pro získávání kyseliny ferulové. Vzorky *žito* ( $2,68 \pm 0,07 \text{ mg.g}^{-1}$ ) a *rýže* ( $2,43 \pm 0,22 \text{ mg.g}^{-1}$ ) měly střední výtěžek. Jejich využití jako potenciální zdroj pro získání kyseliny ferulové by bylo možné je využít, pokud by nižší obsah kyseliny ferulové doplňovala jejich vysoká produkce. Produkce žita nicméně zaostává za produkcí pšenice a zpracování rýže na mouku není vysoké. Tím lze říci, že tyto otruby nepatří mezi nejlepší zdroj kyseliny ferulové jejich případné možné využití je v určitých regionech s jejich převládající produkcí (Asie v případě rýže).

Druhotným cílem této práce bylo charakterizovat vytěžený, hydrolyzovaný odpad z hlediska extrahovatelnosti minerálních látek do vody. Pro srovnání byl tento pokus realizován i pro původní, nezpracované otruby. Tento experiment simuloval uvolňování minerálních látek do půdy s cílem stanovit potenciál pro využití v oblasti zemědělství. Pro porovnání jednotlivých vzorků byla provedena prvková analýza vodných extraktů (měď, železo, mangan, fosfor, zinek, vápník, draslík, hořčík). Obsah minerálních látek v rostlinném materiálu je velmi závislý na kvalitě půdy a pěstitelských podmínkách. U extraktů z hydrolyzovaných otrub bylo patrné, že téměř u většiny vzorků byly stanovené prvky v nižších koncentracích než u neopracovaných výchozích otrub nižší výtěžnost. Tento rozdíl je způsoben tím, že část minerálu již byla vyextrahována během alkalické hydrolýzy. Výjimkou byly prvky měď a železo, u kterých byla stanovena vyšší výtěžnost z hydrolyzovaných otrub. To bylo pravděpodobně způsobeno snazším uvolněním těchto elementů z matrice po hydrolýze. V nehydrolyzovaném materiálu bylo nejvyšších průměrných výtěžků prvků, zajímavých pro výživu rostlin, dosaženo v případě rýžových otrub. U hydrolyzovaných zbytků byly nejlepší výtěžky u otrub špaldových. Rýžové otruby v surovém stavu se ukázaly jako potenciální surovina pro využití jako hnojivo. Na druhou stranu výtěžnost minerálních látek v hydrolyzátu byla slabší a tyto rýžové otruby také nejsou vhodným zdrojem kyseliny ferulové. V celkovém výsledku se ukázaly špaldové otruby jako nejlepší zdroj kyseliny ferulové i s potenciální využitelností vzniklého hydrolyzátu jako hnojivo pro novou výsadbu obilovin. Z opačné strany spektra, jako nevhodný zdroj pro extrakci minerálů i kyseliny ferulové byly definovány otruby ovesné.

Tato Bakalářská práce je prvotním úvodem do problematiky. Pro získání objektivnějších výsledků bude nutné se této problematice věnovat s větší podrobností. Do budoucna má tato témata

potenciální využití hlavně v závislosti na množství produkovaných otrub jakožto vstupní suroviny i v závislosti následného využití kyseliny ferulové.

## LITERATURA

- [1] PŘÍHODA, Josef, Marie HRUŠKOVÁ a Pavel SKŘIVAN. *Cereální chemie a technologie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-708-0530-7.
- [2] Cereální suroviny a mlynářství. *Technologie potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, s. 140-157. ISBN 80-7080-509-9.
- [3] *Obiloviny v lidské výživě: Moderní trendy v mlynářské a pekárenské výrobě*. 1. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2016. Publikace České technologické platformy pro potraviny. ISBN 978-80-88019-16-9.
- [4] APPRICH, Silvia, Özge TIRPANALAN, Johannes HELL, Stefan BÖHMDORFER, Susanne SIEBENHANDL-EHN, Senad NOVALIN a Wolfgang KNEIFEL. Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products. *LWT - Food Science and Technology*. 2013, , 222-231. doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.003.
- [5] WINTER, K. a U. GUPTA. MINERAL ELEMENTS IN CEREAL GRAINS AND LEGUMES GROWN IN PRINCE EDWARD ISLAND. *Canadian Journal of Animal Science*. 1987, **67**(2), 569-572. DOI: 10.4141/cjas87-057. ISSN 0008-3984. Dostupné také z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.4141/cjas87-057>
- [6] KAJALA, Ilkka, Jari MÄKELÄ, Rossana CODA et al. Rye bran as fermentation matrix boosts in situ dextran production by *Weissella confusa* compared to wheat bran. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016, **100**(8), 3499-3510. DOI: 10.1007/s00253-015-7189-6. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-015-7189-6>
- [7] BARKER, Allen a D. PILBEAM. *Handbook of plant nutrition*. 2. Boca Raton, FL, 2007. ISBN 978-0-8247-5904-9.
- [8] FARUK, Omar a Mohini SAIN. *Lignin in polymer composites*. 1. Boston ;: William Andrew, 2016. ISBN 978-0-323-35565-0.
- [9] VLČKOVÁ, Zoja, Laurent GRASSET, Barbora ANTOŠOVÁ, Miloslav PEKAŘ a Jiří KUČERÍK. Lignite pre-treatment and its effect on bio-stimulative properties of respective lignite humic acids. *Soil Biology and Biochemistry*. 2009, **41**(9), 1894-1901. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.06.013. ISSN 00380717. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071709002235>
- [10] SUN, Run-Cang. *Cereal straw as a resource for sustainable Biomaterials and biofuels: Chemistry, Extractives, Lignin, Hemicelluloses and Cellulose*. 1. The Greath Britain: Elseier, 2010, 289 s. ISBN 978-0-444-53234-3.
- [11] GATENHOLM, Paul. a Maija. TENKANEN. *Hemicelluloses: science and technology*. 1. Washington, DC: American Chemical Society, 2004. ISBN 08-412-3842-1.

- [12] Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *J. Agric. Food Chem.* 2003, **2003**(51), 2866-2887.
- [13] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [14] WANG, Lan, Yang YAO, Zhonghu HE, Desen WANG, Aihua LIU a Yong ZHANG. Determination of phenolic acid concentrations in wheat flours produced at different extraction rates. *Journal of Cereal Science*. 2012, **2013**(57), 67-72.
- [15] NATELLA, Fausta, Mirella NARDINI, Maurizio DI FELICE a Cristina SCACCINI. Benzoic and Cinnamic Acid Derivatives as Antioxidants: Structure–Activity Relation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999, **47**(4), 1453-1459. DOI: 10.1021/jf980737w. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf980737w>
- [16] Gallic acid. *Pubchem: OPEN chemistry Database* [online]. b.r. [cit. 2017-12-14]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/370#section=Top>
- [17] The Chemistry of Food Additives and Preservatives. *The chemistry of food additives and preservatives*. 2013. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2013, s. 1-33. ISBN 9781118274149.
- [18] FARHOOSH, Reza a Laura NYSTRÖM. Antioxidant potency of gallic acid, methyl gallate and their combinations in sunflower oil triacylglycerols at high temperature. *Food Chemistry*. 2018, **2018**(244), 29-35.
- [19] TAOFIQ, Oludemi, Ana GONZÁLEZ-PARAMÁS, Maria BARREIRO a Isabel FERREIRA. Hydroxycinnamic Acids and Their Derivatives: Cosmeceutical Significance, Challenges and Future Perspectives, a Review. *Molecules*. 2017, **2017**(22), 281-305.
- [20] Vanillic acid. *National Center for Biotechnology Information.: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8468>
- [21] HUANG, Zhixian, Larry DOSTAL a John ROSAZZAS. Mechanisms of Ferulic Acid Conversions to Vanillic Acid and Guaiacol by *Rhodotorula rubra*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. USA, 1993, **1993**(268), 23951-23958.
- [22] ABATTI, Guilherme, Alfredo PIRES, Almir SPINELLI, Nico SCHARNAGL a Thiago CONCEIÇÃO. Conversion coating on magnesium alloy sheet (AZ31) by vanillic acid treatment: Preparation, characterization and corrosion behavior. *Journal of Alloys and Compounds*. 2018, **2018**(738), 224-232.
- [23] Syringic acid. *National Center for Biotechnology Information.: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2005 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10742>

- [24] SUN, Congyong, Yangyang YUAN, Emmanuel OMARI-SIAW et al. An Efficient HPLC Method for Determination of Syringic Acid Liposome in Rats Plasma and Mice Tissues: Pharmacokinetic and Biodistribution Application. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2017, **14**(1), -. DOI: 10.2174/1573412912666160926101220. ISSN 15734129. Dostupné také z: <http://www.eurekaselect.com/145780/article>
- [25] Salicylic acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/338>
- [26] SENARATNA, Tissa, Darren TOUCHELL, Eric BUNN a Kingsley DIXON. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*. 2000, **2000**(30), 157-161.
- [27] HUANG, An-Chi, Yu-Kai CHUANG, Chung-Fu HUANG a Chi-Min SHU. Thermokinetic analysis of the stability of malic and salicylic acids in cosmeceutical formulations containing metal oxides. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2018, **2018**(132), 165-172.
- [28] Gentisic acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-12]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3469>
- [29] ASHIDATE, Keiko, Mitsunobu KAWAMURA, Daigo MIMURA, Hisako TOHDA, Shigeru MIYAZAKI, Tamio TERAMOTO, Yorihiro YAMAMOTO a Yukio HIRATA. Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma. *European Journal of Pharmacology*. 2005, **2005**(513), 173–179.
- [30] FERNÁNDEZ, Israel, Pedro CUEVAS, Javier ANGULO et al. Gentisic Acid, a Compound Associated with Plant Defense and a Metabolite of Aspirin, Heads a New Class of in Vivo Fibroblast Growth Factor Inhibitors. *Journal of Biological Chemistry*. 2010, **285**(15), 11714-11729. DOI: 10.1074/jbc.M109.064618. ISSN 0021-9258. Dostupné také z: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M109.064618>
- [31] SHARMA, Om, , BHAT a Bhupinder SINGH. Thin-layer chromatography of gallic acid, methyl gallate, pyrogallol, phloroglucinol, catechol, resorcinol, hydroquinone, catechin, epicatechin, cinnamic acid, p-coumaric acid, ferulic acid and tannic acid. *Journal of Chromatography A*. 1998, **1998**(822), 167-171.
- [32] P-Coumaric acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637542>
- [33] KIM, Hyun-Bum, Seok LEE, Eun-Sang HWANG, Sungho MAENG a Ji-Ho PARK. P-Coumaric acid enhances long-term potentiation and recovers scopolamine-induced learning and memory impairments. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017, **2017**(492), 493-499.

- [34] KHANI, Rouhollah, Zeinab ROSTAMI, Ghodsieh BAGHERZADE a Vahid KHOJEH. Extraction and Determination of Trace Amounts of p -Coumaric Acid in Vinegar, Carrot Juice, and Seed Extract from *Silybum marianum* (L.) Gaertn. *K HANI ET AL . :J OURNAL OF AOAC I NTERNATIONAL*. 2018, **101**(2), 490-499. DOI: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0189>.
- [35] Sinapic acid. *National Center for Biotechnology Information.: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637775>
- [36] QUINN, Leah, Steven GRAY, Steve MEANEY, Stephen FINN, Pdraig MCLOUGHLIN a Maria HAYES. Extraction and Quantification of Sinapinic Acid from Irish Rapeseed Meal and Assessment of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE-I) Inhibitory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017, **65**(32), 6886-6892. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02670. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.7b02670>
- [37] KOLÁŘOVÁ, Lenka, Lukáš KUČERA, Petr VAŇHARA, Aleš HAMPL a Josef HAVEL. Use of flower-like gold nanoparticles in time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2015, **29**(17), 1585-1595. DOI: 10.1002/rcm.7265. ISSN 09514198. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/rcm.7265>
- [38] NIČIFOROVIĆ, Neda a Helena ABRAMOVIĆ. Sinapic Acid and Its Derivatives: Natural Sources and Bioactivity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014, **13**(1), 34-51. DOI: 10.1111/1541-4337.12041. ISSN 15414337. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1541-4337.12041>
- [39] Caffeic acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-16]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/689043>
- [40] GULCIN, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 2006, **217**(2-3), 213-220. DOI: 10.1016/j.tox.2005.09.011. ISSN 0300483X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X05004786>
- [41] DE SOUZA, F.S. a A. SPINELLI. Caffeic acid as a green corrosion inhibitor for mild steel. *Corrosion Science*. 2009, **51**(3), 642-649. DOI: 10.1016/j.corsci.2008.12.013. ISSN 0010938X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010938X08005301>
- [42] OLTHOF, Margreet, Peter HOLLMAN a Martijn KATAN. Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans. *The Journal of Nutrition*. 2001, **1**(131), 66-71.
- [43] Ferulic acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-17]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/445858>
- [44] BURANOV, Anvar a G. MAZZA. Analytical Methods: Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. *Food Chemistry*. 2009, **2009**(115), 1542-1548.

- [45] BARBEROUSSE, Hélène, Olivier ROISEUX, Christelle ROBERT, Michel PAQUOT, Claude DEROANNE a Christophe BLECKER. Analytical methodologies for quantification of ferulic acid and its oligomers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2008, **88**(9), 1494-1511. DOI: 10.1002/jsfa.3242. ISSN 00225142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.3242>
- [46] Ferulic Acid: Therapeutic Potential Through Its Antioxidant Property. *J.Clin Biochem*. 2007, (40), 92-100.
- [47] OU, Shiyi a Kin-Chor KWOK. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004, **84**(11), 1261-1269. DOI: 10.1002/jsfa.1873. ISSN 0022-5142. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.1873>
- [48] TRUONG, Hoa, Manh DO VAN, Long DUC HUYNH et al. A Method for Ferulic Acid Production from Rice Bran Oil Soapstock Using a Homogenous System. *Applied Sciences*. 2017, **7**(8), 796-. DOI: 10.3390/app7080796. ISSN 2076-3417. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2076-3417/7/8/796>
- [49] JIANG, Kankan, Lulu LI, Liangkun LONG a Shaojun DING. Comprehensive evaluation of combining hydrothermal pretreatment (autohydrolysis) with enzymatic hydrolysis for efficient release of monosaccharides and ferulic acid from corn bran. *Industrial Crops and Products*. 2018, **113**, 348-357. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.01.047. ISSN 09266690. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669018300475>
- [50] DE ALMEIDA ANTUNES FERRAZ, José, Lucas SOUZA, Glêydison SOARES, Janclei COUTINHO, Julieta DE OLIVEIRA, Elizama AGUIAR-OLIVEIRA a Marcelo FRANCO. Enzymatic saccharification of lignocellulosic residues using cellulolytic enzyme extract produced by *Penicillium roqueforti* ATCC 10110 cultivated on residue of yellow mombin fruit. *Bioresource Technology*. 2018, **248**, 214-220. DOI: 10.1016/j.biortech.2017.06.048. ISSN 09608524. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852417309355>
- [51] AKTAS-AKYILDIZ, E., O. MATTILA, N. SOZER, K. POUTANEN, H. KOKSEL a E. NORDLUND. Effect of steam explosion on enzymatic hydrolysis and baking quality of wheat bran. *Journal of Cereal Science*. 2017, **78**, 25-32. DOI: 10.1016/j.jcs.2017.06.011. ISSN 07335210. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521017304940>
- [52] MATHEW, Sindhu, Anna ARONSSON, Eva KARLSSON a Patrick ADLERCREUTZ. Xylo- and arabinoxyloligosaccharides from wheat bran by endoxylanases, utilisation by probiotic bacteria, and structural studies of the enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018, **102**(7), 3105-3120. DOI: 10.1007/s00253-018-8823-x. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-018-8823-x>

- [53] NGUYEN, Cuong, Thanh NGUYEN, Gyung CHOI, Yong CHOI, Kyoung JANG, Youn-Je PARK a Jin-Cheol KIM. Acid hydrolysis of Curcuma longa residue for ethanol and lactic acid fermentation. *Bioresource Technology*. 2014, **151**, 227-235. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.10.039. ISSN 09608524. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852413016192>
- [54] GUERRA-RODRÍGUEZ, Esther, Oscar PORTILLA-RIVERA, Lorenzo JARQUÍN-ENRÍQUEZ, Jose RAMÍREZ a Manuel VÁZQUEZ. Acid hydrolysis of wheat straw: A kinetic study. *Biomass and Bioenergy*. 2012, **36**, 346-355. DOI: 10.1016/j.biombioe.2011.11.005. ISSN 09619534. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0961953411005769>
- [55] FUSAWAT, Pimpilai a Nuansri RAKARIYATHAM. Optimization of Autoclave and Microwave Assisted Alkaline Hydrolysis for Release of Ferulic Acid from Biomass. *CHIANG MAI JOURNAL OF SCIENCE*. 2017, **3**(44), 993-1001.
- [56] MOHD SHARIF, Nurul, Ee THOR, Norazwina ZAINOL a Mohd JAMALUDDIN. Optimization of ferulic acid production from banana stem waste using central composite design. *ENVIRONMENTAL PROGRESS & SUSTAINABLE ENERGY*. 2017, **36**(4), 1217-1223. DOI: 10.1002/ep.12560. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ep.12560>
- [57] GADALKAR, Sagar a Virendra RATHOD. Pre-treatment of ferulic acid esterases immobilized on MNPs to enhance the extraction of ferulic acid from defatted rice bran in presence of ultrasound. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017, **10**, 342-351. DOI: 10.1016/j.bcab.2017.03.016. ISSN 18788181. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878818116304145>
- [58] AARABI, Aazam, Maryam MIZANI, Masoud HONARVAR, Hossein FAGHIHIAN a Abbas GERAMI. Extraction of ferulic acid from sugar beet pulp by alkaline hydrolysis and organic solvent methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2016, **10**(1), 42-47. DOI: 10.1007/s11694-015-9274-z. ISSN 2193-4126. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11694-015-9274-z>
- [59] AANIFAH, Fairouz, Phang YEE, Helmi WASOH a Suraini ABD-AZIZ. Effect of different alkaline treatment on the release of ferulic acid from oil palm empty fruit bunch fibres. *JOURNAL OF OIL PALM RESEARCH*. 2014, **26**(4), 321-331.
- [60] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [61] OPEKAR, František. *Základní analytická chemie: pro studenty, pro něž analytická chemie není hlavním studijním oborem*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2003. ISBN 978-80-246-0553-1.
- [62] CHURÁČEK, Jaroslav a Stanislav KOTRNÝ. *Analytická chemie II*. První. vysoká škola chemicko-technologická v pardubicích: ofsetem v Edičním středisku VŠCHT Pardubice, 1983, 189 s.



- [63] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [64] MARCOTULI, Ilaria, Yves HSIEH, Jelle LAHNSTEIN, Kuok YAP, Rachel BURTON, Antonio BLANCO, Geoffrey FINCHER a Agata GADALETA. Structural Variation and Content of Arabinoxylans in Endosperm and Bran of Durum Wheat ( *Triticum turgidum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2016, **64**(14), 2883-2892. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00103. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b00103>
- [65] ANDREASEN, M.F., L.P. CHRISTENSEN, A.S. MEYER a Å. HANSEN. Ferulic Acid Dehydrodimers in Rye(*Secale cereale* L.). *Journal of Cereal Science*. 2000, **31**(3), 303-307. DOI: 10.1006/jcrs.1999.0296. ISSN 07335210. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521099902965>
- [66] TRUONG, Hoa, Phuong LUU, Kiyoshi IMAMURA, Takeo MATSUBARA, Hideki TAKAHASHI, Norimichi TAKENAKA, Luu BOI a Yasuaki MAEDA. Binary Solvent Extraction of Tocols,  $\gamma$ -Oryzanol, and Ferulic Acid from Rice Bran Using Alkaline Treatment Combined with Ultrasonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017, **65**(24), 4897-4904. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b00055. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.7b00055>
- [67] WALTERS, Mallory, Ana LIMA RIBEIRO, Farah HOSSEINIAN a Apollinaire TSOPMO. Phenolic acids, avenanthramides, and antioxidant activity of oats defatted with hexane or supercritical fluid. *Journal of Cereal Science*. 2018, **79**, 21-26. DOI: 10.1016/j.jcs.2017.09.010. ISSN 07335210. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521017302916>
- [68] ATTOE, E., M.A KEKONG, J. UKE a , PETER. Combined Effect of Rice Bran And Nitrogen Fertilizer on Soil: Properties And Yield of Cassava In Obubra, Cross River State, Nigeria. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 2016, **9**(4), 71-75. DOI: 10.9790/2380-0904017175.

## CITACE OBRÁZKY:

- Obrázek 1 PŘÍHODA, Josef, Marie HRUŠKOVÁ a Pavel SKŘIVAN. *Cereální chemie a technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, s. 28. ISBN 80-708-0530-7.
- Obrázek 2 Hasbin. File:Gallic acid.svg. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Gallic\\_acid.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Gallic_acid.svg)
- Obrázek 3 File:Kwas wanilinowy.svg. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Kwas\\_wanilinowy.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Kwas_wanilinowy.svg)
- Obrázek 4 YIKRAZUUL. Structure of Syringic acid; Cedar acid; Gallic acid 3,5-dimethyl ether; 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Syringic\\_acid.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Syringic_acid.svg)
- Obrázek 5 BENJAH-BMM27 a BOOYABAZOOKA. Skeletal formula of salicylic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Salicylic-acid-skeletal.svg>
- Obrázek 6 NEUROTAKER. Structure of Gentisic acid (2,5-Dihydroxybenzoic acid). In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Gentisins%C3%A4ure.svg>
- Obrázek 7 CALVERO. Chemical structure of p-coumaric acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coumaric\\_acid\\_acsv.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Coumaric_acid_acsv.svg)
- Obrázek 8 EDGAR181. Chemical structure of sinapic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Sinapic\\_acid.png](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Sinapic_acid.png)
- Obrázek 9 NEUROTAKER. Structure of caffeic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/File:Kaffees%C3%A4ure.svg>
- Obrázek 10 CALVERO. Chemical structure of ferulic acid. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2017-12-15]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Ferulic\\_acid\\_acsv.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Ferulic_acid_acsv.svg)
- Obrázek 11 BURANOV, Anvar U. a G. MAZZA. Analytical Methods: Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. *Food Chemistry*. 2009, **2009**(115), 1542-1548,s 1545.
- Obrázek 12 *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, s. 25. ISBN 80-86369-07-2.

## CITACE TABULKY

- Tabulka 1      Přehled druhů pšenice. *Cereální chemie a technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, s. 12. ISBN 80-708-0530-7.
- Tabulka 2      USDA Food Composition Databases. *United States Department of Agriculture: Agricultural Research Service* [online]. USA: National Agricultural Library, 2018 [cit. 2018-04-22]. Dostupné z: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>
- KAJALA, Ilkka, Jari MÄKELÄ, Rossana CODA, et al. Rye bran as fermentation matrix boosts in situ dextran production by *Weissella confusa* compared to wheat bran. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2016, **100**(8), 3499-3510. DOI: 10.1007/s00253-015-7189-6. ISSN 0175-7598. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-015-7189-6>
- Tabulka 3      Ferulic acid. *National Center for Biotechnology Information: PubChem Compound Database* [online]. USA: U.S. National Library of Medicine, 2004 [cit. 2018-04-17]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/445858>

## **SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK**

ANOVA – Analýza rozptylu

HPLC – Vysokotlaká kapalinová chromatografie

ICP-OES – Opticky emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

UV – ultrafialová část spektra

VIS – viditelná část spektra